

REC'D 15 NOV 2000

WIPO

PCT

10/088232

PCT/JP00/06401

20.09.00

JP00/6401

日本国特許庁  
PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

4

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日  
Date of Application:

2000年 4月19日

出願番号  
Application Number:

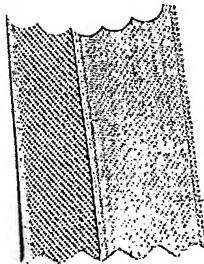
特願2000-117451

出願人  
Applicant(s):

富士写真フィルム株式会社

PRIORITY  
DOCUMENT

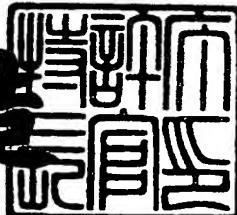
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



特許庁長官  
Commissioner,  
Patent Office

2000年10月27日

及川耕造



出証番号 出証特2000-3087703

【書類名】 特許願

【整理番号】 A01158M

【提出日】 平成12年 4月19日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C07D209/00

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県南足柄市中沼210番地 富士写真フィルム株式会社足柄研究所内

【氏名】 西垣 純爾

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県南足柄市中沼210番地 富士写真フィルム株式会社足柄研究所内

【氏名】 中村 剛希

【特許出願人】

【識別番号】 000005201

【氏名又は名称】 富士写真フィルム株式会社

【代理人】

【識別番号】 100096219

【弁理士】

【氏名又は名称】 今村 正純

【選任した代理人】

【識別番号】 100092635

【弁理士】

【氏名又は名称】 塩澤 寿夫

【選任した代理人】

【識別番号】 100095843

【弁理士】

【氏名又は名称】 釜田 淳爾

【書類名】 明細書

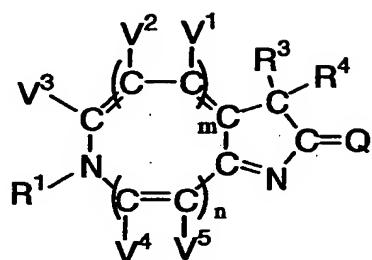
【発明の名称】 蛍光標識用化合物

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記一般式(I)：

【化1】

一般式(I)



(式中、V<sup>1</sup>、V<sup>2</sup>、V<sup>3</sup>、V<sup>4</sup>、及びV<sup>5</sup>はそれぞれ独立に水素原子、又はハロゲン原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロ環基、シアノ基、ヒドロキシ基、ニトロ基、カルボキシル基、アルコキシ基、アリールオキシ基、シリルオキシ基、ヘテロ環オキシ基、アシルオキシ基、カルバモイルオキシ基、アルコキシカルボニルオキシ基、アリールオキシカルボニルオキシ基、アミノ基(アニリノ基を含む)、アシルアミノ基、アミノカルボニルアミノ基、アルコキシカルボニルアミノ基、アリールオキシカルボニルアミノ基、スルファモイルアミノ基、アルキルスルホニルアミノ基、アリールスルホニルアミノ基、メルカプト基、アルキルチオ基、アリールチオ基、ヘテロ環チオ基、スルファモイル基、アルキルスルフィニル基、アリールスルフィニル基、アルキルスルホニル基、アリールスルホニル基、アシル基、アリールオキシカルボニル基、アルコキシカルボニル基、カルバモイル基、ホスホノ基、ホスホナート基、及び被標識物質と共有結合形成可能な基からなる群から選ばれる基(これらの基は置換基を有していてもよい)を示すが、V<sup>1</sup>、V<sup>2</sup>、V<sup>3</sup>、V<sup>4</sup>、及びV<sup>5</sup>が同時に水素原子となることはなく、V<sup>1</sup>とV<sup>2</sup>、V<sup>2</sup>とV<sup>3</sup>、V<sup>4</sup>とV<sup>5</sup>は互いに結合してそれぞれ独立に置換基を有することもある飽和又は不飽和の環を形成してもよく; R<sup>1</sup>は水素原子、又はアルキル基、アリール基、及びヘテロ環基からなる群から選ばれる基(これらの基は置換基を有していてもよい)を示し; R<sup>3</sup>及びR<sup>4</sup>は置換基を有することもあるアルキル基を示し、R<sup>3</sup>とR<sup>4</sup>は連結して置換基を有することもある環を形成してもよく;

【先の出願に基づく優先権主張】

【出願番号】 平成11年特許願第264844号

【出願日】 平成11年 9月20日

【先の出願に基づく優先権主張】

【出願番号】 平成11年特許願第264845号

【出願日】 平成11年 9月20日

【先の出願に基づく優先権主張】

【出願番号】 平成11年特許願第294910号

【出願日】 平成11年10月18日

【先の出願に基づく優先権主張】

【出願番号】 平成11年特許願第294911号

【出願日】 平成11年10月18日

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 038357

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9800464

【ブルーフの要否】 要

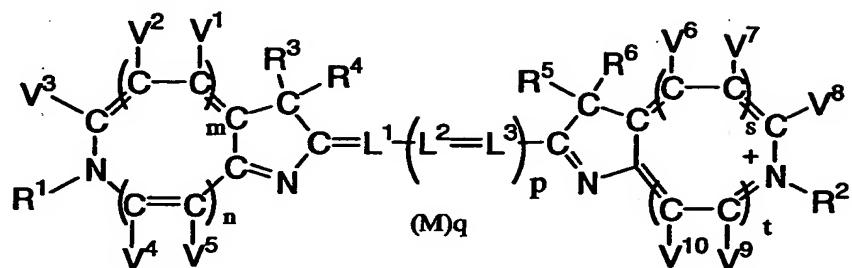
Qはメチン色素発色団を形成するのに必要な原子群を示し；m及びnは0又は1を示し、ただし $m+n=1$ である)

で表される化合物又はその塩。

【請求項2】 下記一般式(II)：

【化2】

一般式(II)



(式中、 $V^1$ 、 $V^2$ 、 $V^3$ 、 $V^4$ 、 $V^5$ 、 $V^6$ 、 $V^7$ 、 $V^8$ 、 $V^9$ 、及び $V^{10}$ はそれぞれ独立に水素原子、又はハロゲン原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロ環基、シアノ基、ヒドロキシ基、ニトロ基、カルボキシル基、アルコキシ基、アリールオキシ基、シリルオキシ基、ヘテロ環オキシ基、アシルオキシ基、カルバモイルオキシ基、アルコキシカルボニルオキシ基、アリールオキシカルボニルオキシ基、アミノ基(アニリノ基を含む)、アシルアミノ基、アミノカルボニルアミノ基、アルコキシカルボニルアミノ基、アリールオキシカルボニルアミノ基、スルファモイルアミノ基、アルキルスルホニルアミノ基、アリールスルホニルアミノ基、メルカプト基、アルキルチオ基、アリールチオ基、ヘテロ環チオ基、スルファモイル基、アルキルスルフィニル基、アリールスルフィニル基、アルキルスルホニル基、アリールスルホニル基、アシル基、アリールオキシカルボニル基、アルコキシカルボニル基、カルバモイル基、ホスホノ基、ホスホナート基、及び標識化合物と共有結合形成可能な基からなる群から選ばれる基(これらの基は置換基を有していてもよい)を示すが、 $V^1$ 、 $V^2$ 、 $V^3$ 、 $V^4$ 、及び $V^5$ が同時に水素原子となることはなく、 $V^1$ と $V^2$ 、 $V^2$ と $V^3$ 、 $V^4$ と $V^5$ 、 $V^6$ と $V^7$ 、 $V^7$ と $V^8$ 、 $V^9$ と $V^{10}$ はそれぞれ独立に飽和又は不飽和の環を形成してもよく； $R^1$ 及び $R^2$ はそれぞれ独立に水素原子、又はアルキル基、アリール基、及びヘテロ環基からなる群から選ばれる基(これらの基は置換基を有していてもよい)を示し； $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$

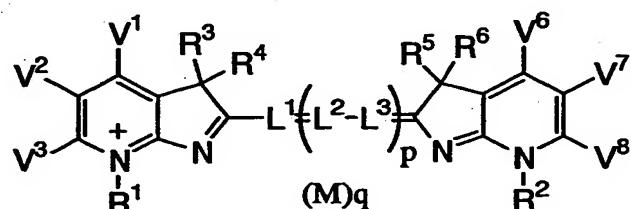
る群から選ばれる基（これらの基は置換基を有していてもよい）を示し；R<sup>3</sup>及びR<sup>4</sup>はそれぞれ独立に置換基を有することもあるアルキル基を示し、R<sup>3</sup>とR<sup>4</sup>は互いに結合して置換基を有することもある環を形成してもよく；Qはメチン色素発色団を形成するのに必要な原子群を示す）

で表される化合物又はその塩。

【請求項4】 下記一般式(IV)：

【化4】

一般式(IV)



(式中、V<sup>1</sup>、V<sup>2</sup>、V<sup>3</sup>、V<sup>6</sup>、V<sup>7</sup>、及びV<sup>8</sup>は水素原子、又はハロゲン原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロ環基、シアノ基、ヒドロキシ基、ニトロ基、カルボキシル基、アルコキシ基、アリールオキシ基、シリルオキシ基、ヘテロ環オキシ基、アシルオキシ基、カルバモイルオキシ基、アルコキシカルボニルオキシ基、アリールオキシカルボニルオキシ基、アミノ基（アニリノ基を含む）、アシルアミノ基、アミノカルボニルアミノ基、アルコキシカルボニルアミノ基、アリールオキシカルボニルアミノ基、スルファモイルアミノ基、アルキルスルホニルアミノ基、アリールスルホニルアミノ基、メルカプト基、アルキルチオ基、アリールチオ基、ヘテロ環チオ基、スルファモイル基、アルキルスルフィニル基、アリールスルフィニル基、アルキルスルホニル基、アリールスルホニル基、アシル基、アリールオキシカルボニル基、アルコキシカルボニル基、カルバモイル基、ホスホノ基、ホスホナート基、及び標識化合物と共に結合形成可能な基からなる群から選ばれる基（これらの基は置換基を有していてもよい）を示すが、V<sup>1</sup>、V<sup>2</sup>、及びV<sup>3</sup>が同時に水素原子となることはなく、V<sup>1</sup>とV<sup>2</sup>、V<sup>2</sup>とV<sup>3</sup>、V<sup>6</sup>とV<sup>7</sup>、V<sup>7</sup>とV<sup>8</sup>はそれぞれ独立に置換基を有することもある飽和又は不飽和の環を形成してもよく；R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>はそれぞれ独立に水素原子、又はアルキル基、アリール基、及びヘテロ環基からなる群から選ばれる基（これらの基は置換基

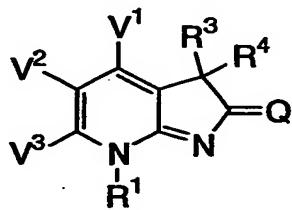
、及び $R^6$ はそれぞれ独立に置換基を有することもあるアルキル基を示し、 $R^3$ と $R^4$ 、 $R^5$ と $R^6$ は互いに結合してそれぞれ独立に置換基を有することもある環を形成してもよく； $m$ 、 $n$ 、 $s$ 、及び $t$ は0又は1を示し、ただし $m+n=1$ であり、かつ $s+t=1$ であり； $L^1$ 、 $L^2$ 、及び $L^3$ はそれぞれ独立に置換基を有することもあるメチル基を示し； $p$ は1、2、又は3を示し； $M$ は対イオンを示し、 $q$ は分子の電荷を中和するのに必要な数を示す）

で表される化合物。

【請求項3】 下記一般式(III)：

【化3】

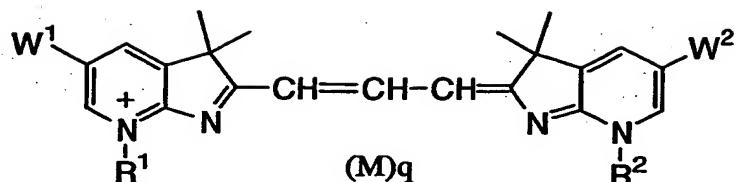
一般式(III)



(式中、 $V^1$ 、 $V^2$ 、及び $V^3$ はそれぞれ独立に水素原子、又はハロゲン原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロ環基、シアノ基、ヒドロキシ基、ニトロ基、カルボキシル基、アルコキシ基、アリールオキシ基、シリルオキシ基、ヘテロ環オキシ基、アシルオキシ基、カルバモイルオキシ基、アルコキシカルボニルオキシ基、アリールオキシカルボニルオキシ基、アミノ基（アニリノ基を含む）、アシルアミノ基、アミノカルボニルアミノ基、アルコキカルボニルアミノ基、アリールオキシカルボニルアミノ基、スルファモイルアミノ基、アルキルスルホニルアミノ基、アリールスルホニルアミノ基、メルカプト基、アルキルチオ基、アリールチオ基、ヘテロ環チオ基、スルファモイル基、アルキルスルフィニル基、アリールスルフィニル基、アルキルスルホニル基、アリールスルホニル基、アシル基、アリールオキシカルボニル基、アルコキシカルボニル基、カルバモイル基、ホスホノ基、ホスホナート基、及び標識化合物と共有結合形成可能な基からなる群から選ばれる基（これらの基は置換基を有していてもよい）を示すが、 $V^1$ 、 $V^2$ 、及び $V^3$ が同時に水素原子となることはなく、 $V^1$ と $V^2$ 、 $V^2$ と $V^3$ はそれぞれ独立に置換基を有することもある飽和又は不飽和の環を形成してもよく； $R^1$ は水素原子、又はアルキル基、アリール基、及びヘテロ環基からな

【化 5】

### 一般式 (V)



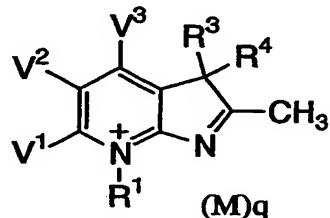
(式中、 $R^1$ 及び $R^2$ はそれぞれ独立に水素原子、又はアルキル基、アリール基、若しくはヘテロ環基（これらの基は置換基を有していてもよい）を示すが、 $R^1$ 及び $R^2$ のうち少なくとも一つは被標識物質と共有結合、イオン結合、又は配位結合し得る反応性置換基で置換されたアルキル基又はアリール基を示し； $M$ は対イオンを示し； $q$ は分子の電荷を中和するのに必要な数を示し； $W^1$ 及び $W^2$ はそれぞれ独立に水素原子、又はハロゲン原子、アルキニル基、アリール基、ヘテロ環基、アルキルチオ基、及びアリールチオ基からなる群から選ばれる基を示すが、 $W^1$ 及び $W^2$ が同時に水素原子となることはない)

### で表される化合物。

【請求項 12】 下記一般式(VI)：

### 【化 6】

### 一般式 (VI)



(式中、 $V^1$ 、 $V^2$ 、及び $V^3$ はそれぞれ独立に水素原子、又はハロゲン原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロ環基、シアノ基、ヒドロキシ基、ニトロ基、カルボキシル基、アルコキシ基、アリールオキシ基、シリルオキシ基、ヘテロ環オキシ基、アシルオキシ基、カルバモイルオキシ基、アルコキシカルボニルオキシ基、アリールオキシカルボニルオキシ基、アミノ基(ア

を有していてもよい)を示し;  $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、及び $R^6$ はそれぞれ独立に置換基を有することもあるアルキル基を示し、 $R^3$ と $R^4$ 、 $R^5$ と $R^6$ は互いに結合してそれぞれ独立に置換基を有することもある環を形成してもよく;  $L^1$ 、 $L^2$ 、及び $L^3$ はそれぞれ独立に置換基を有することもあるメチル基を示し;  $p$ は1、2、又は3を示し;  $M$ は対イオンを示し;  $q$ は分子の電荷を中和するのに必要な数を示す)

で表される化合物。

【請求項5】  $V^1$ 、 $V^2$ 、及び $V^3$ のうち少なくとも一つがハロゲン原子、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロ環基、シアノ基、アルキルチオ基、アリールチオ基、ヘテロ環チオ基、アルキルスルホニル基、及びアリールスルホニル基からなる群から選ばれる基である請求項3又は請求項4に記載の化合物。

【請求項6】  $V^1$ 、 $V^2$ 、及び $V^3$ のうち少なくとも一つがハロゲン原子、アルキニル基、アリール基、及びヘテロ環基からなる群から選ばれる基である請求項3又は請求項4に記載の化合物。

【請求項7】  $V^1$ 、 $V^2$ 、及び $V^3$ のうち少なくとも一つがスルホ基若しくはその塩が置換したアリール基、スルホ基若しくはその塩が置換したヘテロ環基、又はスルホ基若しくはその塩が置換したアルキニル基である請求項3又は請求項4に記載の化合物。

【請求項8】  $R^1$ 及び $R^2$ のうち少なくとも一つが被標識物質と共有結合、イオン結合、又は配位結合し得る反応性置換基で置換されたアルキル基又はアリール基である請求項3から7のいずれか1項に記載の化合物。

【請求項9】  $R^1$ 及び $R^2$ のうち少なくとも一つが被標識物質中のアミノ基、ヒドロキシル基、又はチオール基と共有結合形成可能な基で置換されたアルキル基又はアリール基である請求項3から7のいずれか1項に記載の化合物。

【請求項10】  $R^1$ 及び $R^2$ のうち少なくとも一つがカルボキシル基で置換されたアルキル基である請求項3から7のいずれか1項に記載の化合物。

【請求項11】 下記一般式(V):

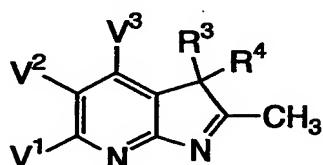
ニリノ基を含む)、アシルアミノ基、アミノカルボニルアミノ基、アルコキシカルボニルアミノ基、アリールオキシカルボニルアミノ基、スルファモイルアミノ基、アルキルスルホニルアミノ基、アリールスルホニルアミノ基、メルカプト基、アルキルチオ基、アリールチオ基、ヘテロ環チオ基、スルファモイル基、アルキルスルフィニル基、アリールスルフィニル基、アルキルスルホニル基、アリールスルホニル基、アシル基、アリールオキシカルボニル基、アルコキシカルボニル基、カルバモイル基、ホスホノ基、ホスホナート基、及び標識化合物と共有結合形成可能な基からなる群から選ばれる基(これらの基は置換基を有していてもよい)を示すが、 $V^1$ 、 $V^2$ 、及び $V^3$ が同時に水素原子となることはなく、 $V^1$ と $V^2$ 、 $V^2$ と $V^3$ はそれぞれ独立に置換基を有することもある飽和又は不飽和の環を形成してもよく;  $R^1$ は水素原子、又はアルキル基、アリール基、及びヘテロ環基からなる群から選ばれる基(これらの基は置換基を有していてもよい)を示し;  $R^3$ 及び $R^4$ は置換基を有することもあるアルキル基を示し、 $R^3$ と $R^4$ は連結して置換基を有することもある環を形成してもよい)

で表される化合物。

【請求項13】 下記一般式(VII) :

【化7】

一般式 (VII)



(式中、 $V^1$ 、 $V^2$ 、及び $V^3$ はそれぞれ独立に水素原子、又はハロゲン原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロ環基、シアノ基、ヒドロキシ基、ニトロ基、カルボキシル基、アルコキシ基、アリールオキシ基、シリルオキシ基、ヘテロ環オキシ基、アシルオキシ基、カルバモイルオキシ基、アルコキシカルボニルオキシ基、アリールオキシカルボニルオキシ基、アミノ基(アニリノ基を含む)、アシルアミノ基、アミノカルボニルアミノ基、アルコキシカルボニルアミノ基、アリールオキシカルボニルアミノ基、スルファモイルアミノ

されていることなどが挙げられる。

【0003】

蛍光標識試薬として古くから知られているフルオレセインイソチオシアネート(FTC)、ローダミンイソチオシアネートは高い蛍光量子収率を有するものの分子吸光係数が低く、また励起及び発光波長が500 nm-600 nmであるため、例えばプロッティングに用いるメンブレンのバックグラウンド蛍光の影響を受けやすいという欠点がある。

【0004】

分子吸光係数の高い色素としては、例えば米国特許第5486616号明細書、特開平2-191674号公報、同5-287209号公報、同5-287266号公報、同8-47400号公報、同9-127115号公報、同7-145148号公報、同6-222059号公報に記載されたシアニン色素、Journal of Fluorescence, 5, 231ページ(1995年)に記載されたバルビツール酸オキソノール等のポリメチン色素が知られているが、これらは一般に蛍光量子収率が小さいという問題を有している。また、これらの色素は水に溶けにくく、溶解しても加水分解が生じる等の問題があるほか、色素同士の分子間相互作用が強いために水性媒体中で凝集体を生じ、そのため蛍光の自己消光が観測される場合が多いという問題もある。

【0005】

特開平2-191674号公報等に記載されているシアニン色素は比較的安定な発色団にスルホン酸基を導入することで水溶性を付与し、かつ凝集体の形成を抑制した優れた色素であるが、蛍光量子収率が充分に高いとは言えず、またスルホン酸基の導入により色素の合成が困難になるという問題点があった。このような状況から蛍光が強い特性に加えて水溶性が高く安定で凝集による蛍光消光が起こらない蛍光色素の開発が求められていた。

【0006】

蛍光が強いその他の色素骨格として英国特許第870,753号明細書に記載のアザインドレニンシアニン色素が知られているが、該特許には水溶性、凝集性、及び水溶液安定性等、蛍光標識試薬に必須の特性に関する記載が無く、さらには標的物質と共有結合を生じさせる反応性置換基を導入した例も開示されていないことか

基、アルキルスルホニルアミノ基、アリールスルホニルアミノ基、メルカプト基、アルキルチオ基、アリールチオ基、ヘテロ環チオ基、スルファモイル基、アルキルスルフィニル基、アリールスルフィニル基、アルキルスルホニル基、アリールスルホニル基、アシル基、アリールオキシカルボニル基、アルコキシカルボニル基、カルバモイル基、ホスホノ基、ホスホナート基、及び標識化合物と共有結合形成可能な基からなる群から選ばれる基（これらの基は置換基を有していてもよい）を示すが、 $V^1$ 、 $V^2$ 、及び $V^3$ が同時に水素原子となることはなく、 $V^1$ と $V^2$ 、 $V^2$ と $V^3$ はそれぞれ独立に置換基を有することもある飽和又は不飽和の環を形成してもよく； $R^1$ は水素原子、又はアルキル基、アリール基、及びヘテロ環基からなる群から選ばれる基（これらの基は置換基を有していてもよい）を示し； $R^3$ 及び $R^4$ は置換基を有することもあるアルキル基を示し、 $R^3$ と $R^4$ は連結して置換基を有することもある環を形成してもよい）

で表される化合物又はその塩。

#### 【発明の詳細な説明】

##### 【0001】

#### 【発明の属する技術分野】

本発明は、DNAの配列決定や蛍光免疫測定法による生理活性物質等の測定あるいは血管に投与して生体内情報を可視化する蛍光造影剤等に用いる高感度な蛍光標識試薬およびその合成中間体に関するものである。

##### 【0002】

#### 【従来の技術】

DNAの配列決定や蛍光免疫測定法による生理活性物質等の測定には従来よりラジオアイソトープで標的物質を標識する方法が用いられてきたが、この方法は安全性、試薬の保存性などの面で問題があり、この方法に変わって蛍光色素で標的物質を標識する方法が種々研究されている。蛍光標識試薬に求められる性能としては、(1)高い蛍光量子収率を有すること；(2)高い分子吸光係数を有すること；(3)水溶性でかつ水性溶媒中で凝集して自己消光を起こさないこと；(4)加水分解を受けにくいこと；(5)光分解が起こりにくいこと；(6)バックグラウンド蛍光の影響を受けにくいこと；(7)標的物質と共有結合を生じさせる反応性置換基が導入

カプト基、アルキルチオ基、アリールチオ基、ヘテロ環チオ基、スルファモイル基、アルキルスルフィニル基、アリールスルフィニル基、アルキルスルホニル基、アリールスルホニル基、アシル基、アリールオキシカルボニル基、アルコキシカルボニル基、カルバモイル基、ホスホノ基、ホスホナート基、及び標識化合物と共有結合形成可能な基からなる群から選ばれる基（これらの基は置換基を有していてもよい）を示すが、 $V^1$ 、 $V^2$ 、 $V^3$ 、 $V^4$ 、及び $V^5$ が同時に水素原子となることはなく、 $V^1$ と $V^2$ 、 $V^2$ と $V^3$ 、 $V^4$ と $V^5$ は互いに結合してそれぞれ独立に置換基を有することもある飽和又は不飽和の環を形成してもよく； $R^1$ は水素原子、又はアルキル基、アリール基、及びヘテロ環基からなる群から選ばれる基（これらの基は置換基を有していてもよい）を示し； $R^3$ 及び $R^4$ は置換基を有することもあるアルキル基を示し、 $R^3$ と $R^4$ は連結して置換基を有することもある環を形成してもよく； $Q$ はシアニン色素発色団、メロシアニン色素発色団、又はスチリル色素発色団を形成するのに必要な原子群を示し； $m$ 及び $n$ は0又は1を示し、ただし $m+n=1$ である）

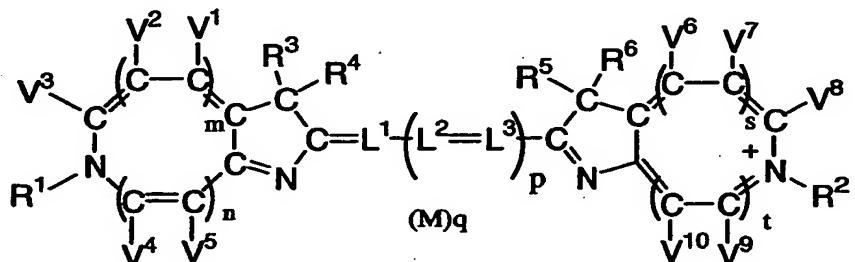
で表される化合物又はその塩を提供するものである。

[0 0 0 9]

また、本発明により、下記一般式(II)：

【化9】

### 一般式 (II)



(式中、 $v^1$ 、 $v^2$ 、 $v^3$ 、 $v^4$ 、 $v^5$ 、 $v^6$ 、 $v^7$ 、 $v^8$ 、 $v^9$ 、及び $v^{10}$ はそれぞれ独立に水素原子、又はハロゲン原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロ環基、シアノ基、ヒドロキシ基、ニトロ基、カルボキシル基、アルコキシ基、アリールオキシ基、シリルオキシ基、ヘテロ環オキシ基、アシルオキシ基、カルバモイルオキシ基、アルコキシカルボニルオキシ基、アリールオキシカ

ら、この色素の蛍光標識試薬としての適性は全く未知であった。また、特開平4-358143号公報、同3-135553号公報、同1-280750号公報、欧州特許公開EP341958号公報には、アザインドレニンシアニンを写真用途に適用した例が開示されているが、これらはアザインドレニンシアニンの吸収特性を利用したものであり、発光特性に着目してそれを積極的に利用したものではなかった。

## 【0007】

## 【課題を解決するための手段及び課題を解決するための手段】

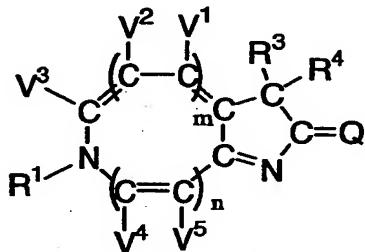
本発明の課題は、DNAの配列決定や蛍光免疫測定法による生理活性物質等の測定あるいは血管に投与して生体内情報を可視化する蛍光造影剤等に用いる高感度な蛍光標識試薬として有用な化合物を提供することにある。また、本発明の別の課題は、上記の化合物の製造用中間体として有用な化合物を提供することにある。本発明者らは上記の課題を解決すべく銳意研究を行ない、下記の化合物を提供することにより上記の課題を解決することに成功した。

## 【0008】

すなわち、本発明は、下記一般式(I)：

## 【化8】

## 一般式(I)



(式中、V<sup>1</sup>、V<sup>2</sup>、V<sup>3</sup>、V<sup>4</sup>、及びV<sup>5</sup>はそれぞれ独立に水素原子、又はハロゲン原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロ環基、シアノ基、ヒドロキシ基、ニトロ基、カルボキシル基、アルコキシ基、アリールオキシ基、シリルオキシ基、ヘテロ環オキシ基、アシルオキシ基、カルバモイルオキシ基、アルコキシカルボニルオキシ基、アリールオキシカルボニルオキシ基、アミノ基(アニリノ基を含む)、アシルアミノ基、アミノカルボニルアミノ基、アルコキシカルボニルアミノ基、アリールオキシカルボニルアミノ基、スルファモイルアミノ基、アルキルスルホニルアミノ基、アリールスルホニルアミノ基、メル

ロキシ基、ニトロ基、カルボキシル基、アルコキシ基、アリールオキシ基、シリルオキシ基、ヘテロ環オキシ基、アシルオキシ基、カルバモイルオキシ基、アルコキシカルボニルオキシ基、アリールオキシカルボニルオキシ基、アミノ基（アニリノ基を含む）、アシルアミノ基、アミノカルボニルアミノ基、アルコキカルボニルアミノ基、アリールオキシカルボニルアミノ基、スルファモイルアミノ基、アルキルスルホニルアミノ基、アリールスルホニルアミノ基、メルカプト基、アルキルチオ基、アリールチオ基、ヘテロ環チオ基、スルファモイル基、アルキルスルフィニル基、アリールスルフィニル基、アルキルスルホニル基、アリールスルホニル基、アシル基、アリールオキシカルボニル基、アルコキシカルボニル基、カルバモイル基、ホスホノ基、ホスホナート基、及び標識化合物と共有結合形成可能な基からなる群から選ばれる基（これらの基は置換基を有していてもよい）を示すが、 $V^1$ 、 $V^2$ 、及び $V^3$ が同時に水素原子となることはなく、 $V^1$ と $V^2$ 、 $V^2$ と $V^3$ はそれぞれ独立に置換基を有することもある飽和又は不飽和の環を形成してもよく； $R^1$ は水素原子、又はアルキル基、アリール基、及びヘテロ環基からなる群から選ばれる基（これらの基は置換基を有していてもよい）を示し； $R^3$ 及び $R^4$ はそれぞれ独立に置換基を有することもあるアルキル基を示し、 $R^3$ と $R^4$ は互いに結合して置換基を有することもある環を形成してもよい）

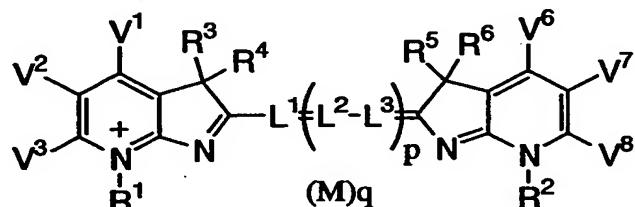
で表される化合物又はその塩；並びに

【0011】

下記一般式(IV)：

【化11】

一般式(IV)



（式中、 $V^1$ 、 $V^2$ 、 $V^3$ 、 $V^6$ 、 $V^7$ 、及び $V^8$ は水素原子、又はハロゲン原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロ環基、シアノ基、ヒドロキシ基、ニトロ基、カルボキシル基、アルコキシ基、アリールオキシ基、シリル

$R^4$ は置換基を有することもあるアルキル基を示し、 $R^3$ と $R^4$ は連結して置換基を有することもある環を形成してもよい)

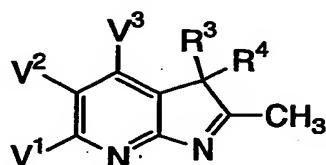
で表される化合物；並びに

【0016】

下記一般式(VII)：

【化14】

一般式 (VII)



(式中、 $V^1$ 、 $V^2$ 、及び $V^3$ はそれぞれ独立に水素原子、又はハロゲン原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロ環基、シアノ基、ヒドロキシ基、ニトロ基、カルボキシル基、アルコキシ基、アリールオキシ基、シリルオキシ基、ヘテロ環オキシ基、アシルオキシ基、カルバモイルオキシ基、アルコキシカルボニルオキシ基、アリールオキシカルボニルオキシ基、アミノ基（アニリノ基を含む）、アシルアミノ基、アミノカルボニルアミノ基、アルコキシカルボニルアミノ基、アリールオキシカルボニルアミノ基、スルファモイルアミノ基、アルキルスルホニルアミノ基、アリールスルホニルアミノ基、メルカプト基、アルキルチオ基、アリールチオ基、ヘテロ環チオ基、スルファモイル基、アルキルスルフィニル基、アリールスルフィニル基、アルキルスルホニル基、アリールスルホニル基、アシル基、アリールオキシカルボニル基、アルコキシカルボニル基、カルバモイル基、ホスホノ基、ホスホナート基、及び標識化合物と共有結合形成可能な基からなる群から選ばれる基（これらの基は置換基を有していてよい）を示すが、 $V^1$ 、 $V^2$ 、及び $V^3$ が同時に水素原子となることはなく、 $V^1$ と $V^2$ 、 $V^2$ と $V^3$ はそれぞれ独立に置換基を有することもある飽和又は不飽和の環を形成してもよく； $R^1$ は水素原子、又はアルキル基、アリール基、及びヘテロ環基からなる群から選ばれる基（これらの基は置換基を有していてよい）を示し； $R^3$ 及び $R^4$ は置換基を有することもあるアルキル基を示し、 $R^3$ と $R^4$ は連結して置換基を有

ルボニルオキシ基、アミノ基（アニリノ基を含む）、アシルアミノ基、アミノカルボニルアミノ基、アルコキシカルボニルアミノ基、アリールオキシカルボニルアミノ基、スルファモイルアミノ基、アルキルスルホニルアミノ基、アリールスルホニルアミノ基、メルカプト基、アルキルチオ基、アリールチオ基、ヘテロ環チオ基、スルファモイル基、アルキルスルフィニル基、アリールスルフィニル基、アルキルスルホニル基、アリールスルホニル基、アシル基、アリールオキシカルボニル基、アルコキシカルボニル基、カルバモイル基、ホスホノ基、ホスホナート基、及び標識化合物と共有結合形成可能な基からなる群から選ばれる基（これらの基は置換基を有していてもよい）を示すが、 $V^1$ 、 $V^2$ 、 $V^3$ 、 $V^4$ 、及び $V^5$ が同時に水素原子となることはなく、 $V^1$ と $V^2$ 、 $V^2$ と $V^3$ 、 $V^4$ と $V^5$ 、 $V^6$ と $V^7$ 、 $V^7$ と $V^8$ 、 $V^9$ と $V^{10}$ はそれぞれ独立に飽和又は不飽和の環を形成してもよく； $R^1$ 及び $R^2$ はそれぞれ独立に水素原子、又はアルキル基、アリール基、及びヘテロ環基からなる群から選ばれる基（これらの基は置換基を有していてもよい）を示し； $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、及び $R^6$ はそれぞれ独立に置換基を有することもあるアルキル基を示し、 $R^3$ と $R^4$ 、 $R^5$ と $R^6$ は互いに結合してそれぞれ独立に置換基を有することもある環を形成してもよく； $m$ 、 $n$ 、 $s$ 、及び $t$ は0又は1を示し、ただし $m+n=1$ であり、かつ $s+t=1$ であり； $L^1$ 、 $L^2$ 、及び $L^3$ はそれぞれ独立に置換基を有することもあるメチン基を示し； $p$ は1、2、又は3を示し； $M$ は対イオンを示し、 $q$ は分子の電荷を中和するのに必要な数を示す）

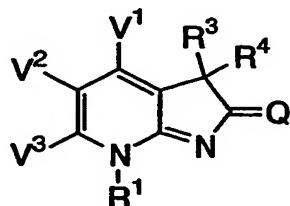
で表される化合物が提供される。

### 【0010】

さらに、本発明により、下記一般式(III)：

### 【化10】

一般式(III)



（式中、 $V^1$ 、 $V^2$ 、及び $V^3$ はそれぞれ独立に水素原子、又はハロゲン原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロ環基、シアノ基、ヒド

立に水素原子、又はハロゲン原子、アルキニル基、アリール基、ヘテロ環基、アルキルチオ基、及びアリールチオ基からなる群から選ばれる基を示すが、 $W^1$ 及び $W^2$ が同時に水素原子となることはない)

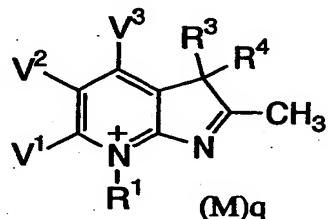
で表される化合物が提供される。

## 【0015】

さらに、本発明により、下記一般式(VI)：

## 【化13】

## 一般式 (VI)



(式中、 $V^1$ 、 $V^2$ 、及び $V^3$ はそれぞれ独立に水素原子、又はハロゲン原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロ環基、シアノ基、ヒドロキシ基、ニトロ基、カルボキシル基、アルコキシ基、アリールオキシ基、シリルオキシ基、ヘテロ環オキシ基、アシルオキシ基、カルバモイルオキシ基、アルコキシカルボニルオキシ基、アリールオキシカルボニルオキシ基、アミノ基(アミノ基を含む)、アシルアミノ基、アミノカルボニルアミノ基、アルコキシカルボニルアミノ基、アリールオキシカルボニルアミノ基、スルファモイルアミノ基、アルキルスルホニルアミノ基、アリールスルホニルアミノ基、メルカプト基、アルキルチオ基、アリールチオ基、ヘテロ環チオ基、スルファモイル基、アルキルスルフィニル基、アリールスルフィニル基、アルキルスルホニル基、アリールスルホニル基、アシル基、アリールオキシカルボニル基、アルコキシカルボニル基、カルバモイル基、ホスホノ基、ホスホナート基、及び標識化合物と共有結合形成可能な基からなる群から選ばれる基(これらの基は置換基を有していてもよい)を示すが、 $V^1$ 、 $V^2$ 、及び $V^3$ が同時に水素原子となることはなく、 $V^1$ と $V^2$ 、 $V^2$ と $V^3$ はそれぞれ独立に置換基を有することもある飽和又は不飽和の環を形成してもよく;  $R^1$ は水素原子、又はアルキル基、アリール基、及びヘテロ環基からなる群から選ばれる基(これらの基は置換基を有していてもよい)を示し; $R^3$ 及び

オキシ基、ヘテロ環オキシ基、アシルオキシ基、カルバモイルオキシ基、アルコキシカルボニルオキシ基、アリールオキシカルボニルオキシ基、アミノ基（アニリノ基を含む）、アシルアミノ基、アミノカルボニルアミノ基、アルコキシカルボニルアミノ基、アリールオキシカルボニルアミノ基、スルファモイルアミノ基、アルキルスルホニルアミノ基、アリールスルホニルアミノ基、メルカプト基、アルキルチオ基、アリールチオ基、ヘテロ環チオ基、スルファモイル基、アルキルスルフィニル基、アリールスルフィニル基、アルキルスルホニル基、アリールスルホニル基、アシル基、アリールオキシカルボニル基、アルコキシカルボニル基、カルバモイル基、ホスホノ基、ホスホナート基、及び標識化合物と共有結合形成可能な基からなる群から選ばれる基（これらの基は置換基を有していてもよい）を示すが、 $V^1$ 、 $V^2$ 、及び $V^3$ が同時に水素原子となることはなく、 $V^1$ と $V^2$ 、 $V^2$ と $V^3$ 、 $V^6$ と $V^7$ 、 $V^7$ と $V^8$ はそれぞれ独立に置換基を有することもある飽和又は不飽和の環を形成してもよく； $R^1$ 及び $R^2$ はそれぞれ独立に水素原子、又はアルキル基、アリール基、及びヘテロ環基からなる群から選ばれる基（これらの基は置換基を有していてもよい）を示し； $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、及び $R^6$ はそれぞれ独立に置換基を有することもあるアルキル基を示し、 $R^3$ と $R^4$ 、 $R^5$ と $R^6$ は互いに結合してそれぞれ独立に置換基を有することもある環を形成してもよく； $L^1$ 、 $L^2$ 、及び $L^3$ はそれぞれ独立に置換基を有することもあるメチル基を示し； $p$ は1、2、又は3を示し； $M$ は対イオンを示し； $q$ は分子の電荷を中和するのに必要な数を示す）で表される化合物が提供される。

## 【0012】

本発明の好ましい態様によれば、

$V^1$ 、 $V^2$ 、及び $V^3$ のうち少なくとも一つがハロゲン原子、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロ環基、シアノ基、アルキルチオ基、アリールチオ基、ヘテロ環チオ基、アルキルスルホニル基、及びアリールスルホニル基からなる群から選ばれる基である一般式(III)又は(IV)で表される化合物；

$V^1$ 、 $V^2$ 、及び $V^3$ のうち少なくとも一つがハロゲン原子、アルキニル基、アリール基、及びヘテロ環基からなる群から選ばれる基である化合物；

$V^1$ 、 $V^2$ 、及び $V^3$ のうち少なくとも一つが $V^1$ 、 $V^2$ 、及び $V^3$ のうち少なくとも一つが

することもある環を形成してもよい)

で表される化合物又はその塩が提供される。

【0017】

また、別の観点からは、上記の化合物を含む蛍光標識試薬；上記化合物により蛍光標識された物質、好ましくは上記化合物により標識された診断用物質；上記化合物により蛍光標識された診断用物質を含む診断用医薬；；上記化合物により蛍光標識された診断用物質を用いて診断を行う方法；上記診断用医薬の製造のための上記化合物の使用；上記化合物を含み、血管内に投与して生体内情報を可視化するための蛍光造影剤；上記蛍光造影剤の製造のための上記化合物の使用が提供される。

【0018】

【発明の実施の形態】

本明細書において、アルキル基は直鎖状、分枝鎖状、環状、又はそれらの組み合わせのいずれでもよく、例えば、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、t-ブチル基、n-オクチル基、エイコシル基、2-エチルヘキシル基などの炭素数1から30程度の直鎖又は分枝鎖のアルキル基；シクロヘキシル基、シクロペンチル基、4-n-ドデシルシクロヘキシル基などの炭素数3から30の置換または無置換のシクロアルキル基又はシクロアルキル基と直鎖若しくは分枝鎖アルキル基との組み合わせであるアルキル基；ビシクロ[1,2,2]ヘプタン-2-イル基、ビシクロ[2,2,2]オクタン-3-イル基などの炭素数5から30のビシクロアルキル基；トリシクロアルキル基などを包含する。アルキル部分を有する置換基（例えばアルキルチオ基など）のアルキル部分も同様である。また、置換基を有するアルキル基としては、例えば、2-クロロエチル、2-シアノエチルなどを挙げることができる。本明細書においてハロゲン原子という場合には、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、又はヨウ素原子のいずれでもよい。また、本明細書においてある官能基又は環構造について「置換基を有することもある（あるいは置換又は無置と表現する場合もある）」という場合、その官能基又は環が1又は2以上の置換基を有する場合があることを意味しているが、置換基の種類、個数、及び置換位置は特に限定されない。

スルホ基若しくはその塩が置換したアリール基、スルホ基若しくはその塩が置換したヘテロ環基、又はスルホ基若しくはその塩が置換したアルキニル基である一般式(III)又は(IV)で表される化合物；

$R^1$ 及び $R^2$ のうち少なくとも一つが被標識物質と共有結合、イオン結合、又は配位結合し得る反応性置換基で置換されたアルキル基又はアリール基である一般式(II)又は(IV)で表される化合物が提供される。

## 【0013】

さらに好ましい態様によれば、一般式(III)又は(IV)で表される化合物又は上記の好ましい化合物において、

$R^1$ 及び $R^2$ のうち少なくとも一つが被標識物質中のアミノ基、ヒドロキシル基、又はチオール基と共有結合形成可能な基で置換されたアルキル基又はアリール基である化合物；及び

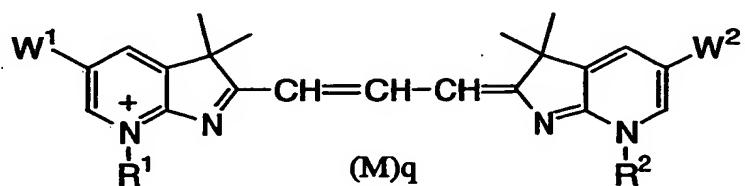
$R^1$ 及び $R^2$ のうち少なくとも一つがカルボキシル基で置換されたアルキル基である化合物が提供される。

## 【0014】

また、本発明により、下記一般式(V)：

## 【化12】

## 一般式(V)



(式中、 $R^1$ 及び $R^2$ はそれぞれ独立に水素原子、又はアルキル基、アリール基、若しくはヘテロ環基（これらの基は置換基を有していてもよい）を示すが、 $R^1$ 及び $R^2$ のうち少なくとも一つは被標識物質と共有結合、イオン結合、又は配位結合し得る反応性置換基で置換されたアルキル基又はアリール基を示し；Mは対イオンを示し；qは分子の電荷を中和するのに必要な数を示し； $W^1$ 及び $W^2$ はそれぞれ独

## 【0019】

一般式(I)において、 $V^1$ 、 $V^2$ 、 $V^3$ 、 $V^4$ 、及び $V^5$ としては、水素原子又はハロゲン原子、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロ環基、シアノ基、ヒドロキシ基、ニトロ基、カルボキシル基、アルコキシ基、アリールオキシ基、シリルオキシ基、ヘテロ環オキシ基、アシルオキシ基、カルバモイルオキシ基、アルコキシカルボニルオキシ基、アリールオキシカルボニルオキシ基、アミノ基（アニリノ基を含む）、アシルアミノ基、アミノカルボニルアミノ基、アルコキシカルボニルアミノ基、アリールオキシカルボニルアミノ基、スルファモイルアミノ基、アルキルスルホニルアミノ基、アリールスルホニルアミノ基、メルカプト基、アルキルチオ基、アリールチオ基、ヘテロ環チオ基、スルファモイル基、アルキルスルフィニル基、アリールスルフィニル基、アルキルスルホニル基、アリールスルホニル基、アシル基、アリールオキシカルボニル基、アルコキシカルボニル基、カルバモイル基、ホスホノ基、ホスホナート基、及び標識化合物と共有結合形成可能な基からなる群から選ばれる基を用いることができるが、それらの基は任意の位置に1又は2以上の置換基を有していてもよく、2個以上の置換基を有する場合にはそれらは同一でも異なっていてもよい。ただし、 $V^1$ 、 $V^2$ 、 $V^3$ 、 $V^4$ 、及び $V^5$ が同時に水素原子となることはない。

## 【0020】

上記の基の具体例（1又は2以上の置換基を有する場合を含む）としては、ハロゲン原子（例えば、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子など）、アルキル基（上記に例示したものなど）、アルケニル基【直鎖、分枝鎖状、環状、又はそれらの組み合わせのアルケニル基を用いることができ、例えば、ビニル基、アリル基、ブレニル基、ゲラニル基、オレイル基などの炭素数2から30の直鎖状又は分枝鎖状のアルケニル基；2-シクロペンテン-1-イル基、2-シクロヘキセン-1-イル基などの炭素数3から30のシクロアルケニル基；ビシクロ[2,2,1]ヘプト-2-エン-1-イル基、ビシクロ[2,2,2]オクト-2-エン-4-イル基などの炭素数5から30のビシクロアルケニル基など】、アルキニル基（好ましくは、炭素数2から30の置換または無置換のアルキニル基、例えば、エチニル基、プロパルギル基、トリメチルシリルエチニル基基、フェニルエチ

ニル基基、p-スルホフェニルエチニル基基、p-スルホニルアミノフェニルエチニル基、m-スルホニルアミノフェニルエチニル基など)、アリール基(好ましくは炭素数6から30の置換もしくは無置換のアリール基、例えばフェニル基、p-トリル基、ナフチル基、m-クロロフェニル、o-ヘキサデカノイルアミノフェニル基など)、

## 【0021】

ヘテロ環基(芳香族又は非芳香族のヘテロ環化合物から一個の水素原子を取り除いた一価の残基に相当し、好ましくは5又は6員の置換又は無置換のヘテロ環基、さらに好ましくは、炭素数3から30の5又は6員の芳香族のヘテロ環基、例えば、2-フリル基、2-チエニル基、2-ピリミジニル基、2-ベンゾチアゾリル基など)、シアノ基、ヒドロキシル基、ニトロ基、カルボキシル基、アルコキシ基(好ましくは、炭素数1から30の置換又は無置換のアルコキシ基、例えば、メトキシ基、エトキシ基、イソプロポキシ基、t-ブロトキシ基、n-オクチルオキシ基、2-メトキシエトキシ基など)、アリールオキシ基(好ましくは、炭素数6から30の置換又は無置換のアリールオキシ基、例えば、フェノキシ基、2-メチルフェノキシ基、4-t-ブチルフェノキシ基、3-ニトロフェノキシ基、2-テトラデカノイルアミノフェノキシ基など)、シリルオキシ基(好ましくは、炭素数3から20のシリルオキシ基、例えば、トリメチルシリルオキシ基、t-ブチルジメチルシリルオキシ基など)、ヘテロ環オキシ基(好ましくは、炭素数2から30の置換又は無置換のヘテロ環オキシ基、例えば、1-フェニルテトラゾール-5-オキシ、2-テトラヒドロピラニルオキシなど)、

## 【0022】

アシルオキシ基(好ましくは、ホルミルオキシ基、炭素数2から30の置換又は無置換のアルキルカルボニルオキシ基、あるいは炭素数6から30の置換もしくは無置換のアリールカルボニルオキシ基、例えば、ホルミルオキシ基、アセチルオキシ基、ピバロイルオキシ基、ステアロイルオキシ基、ベンゾイルオキシ基、p-メトキシフェニルカルボニルオキシ基など)、カルバモイルオキシ基(好ましくは、炭素数1から30の置換又は無置換のカルバモイルオキシ基、例えば、N, N-ジメチルカルバモイルオキシ基、N, N-ジエチルカルバモイルオキ

シ基、モルホリノカルボニルオキシ基、N, N-ジ-*n*-オクチルアミノカルボニルオキシ基、N-*n*-オクチルカルバモイルオキシ基など)、アルコキシカルボニルオキシ基(好ましくは、炭素数2から30の置換又は無置換のアルコキシカルボニルオキシ基、例えばメトキシカルボニルオキシ基、エトキシカルボニルオキシ基、*t*-ブトキシカルボニルオキシ基、*n*-オクチルカルボニルオキシ基など)、

## 【0023】

アリールオキシカルボニルオキシ基(好ましくは、炭素数7から30の置換又は無置換のアリールオキシカルボニルオキシ基、例えば、フェノキシカルボニルオキシ基、*p*-メトキシフェノキシカルボニルオキシ基、*p*-*n*-ヘキサデシルオキシフェノキシカルボニルオキシ基など)、アミノ基(好ましくは、アミノ基、炭素数1から30の置換又は無置換のアルキルアミノ基、炭素数6から30の置換又は無置換のアニリノ基、例えば、アミノ基、メチルアミノ基、ジメチルアミノ基、アニリノ基、*N*-メチル-アニリノ基、ジフェニルアミノ基など)、アシルアミノ基(好ましくは、ホルミルアミノ基、炭素数1から30の置換又は無置換のアルキルカルボニルアミノ基、炭素数6から30の置換又は無置換のアリールカルボニルアミノ基、例えば、ホルミルアミノ基、アセチルアミノ基、ピバロイルアミノ基、ラウロイルアミノ基、ベンゾイルアミノ基、3, 4, 5-トリ-*n*-オクチルオキシフェニルカルボニルアミノ基など)、アミノカルボニルアミノ基(好ましくは、炭素数1から30の置換又は無置換のアミノカルボニルアミノ基、例えば、カルバモイルアミノ基、N, N-ジメチルアミノカルボニルアミノ基、N, N-ジエチルアミノカルボニルアミノ基、モルホリノカルボニルアミノ基など)、

## 【0024】

アルコキシカルボニルアミノ基(好ましくは、炭素数2から30の置換又は無置換アルコキシカルボニルアミノ基、例えば、メトキシカルボニルアミノ基、エトキシカルボニルアミノ基、*t*-ブトキシカルボニルアミノ基、*n*-オクタデシルオキシカルボニルアミノ基、*N*-メチル-メトキシカルボニルアミノ基など)、アリールオキシカルボニルアミノ基(好ましくは、炭素数7から30の置換又は

無置換のアリールオキシカルボニルアミノ基、例えば、フェノキシカルボニルアミノ基、p-クロロフェノキシカルボニルアミノ基、m-n-オクチルオキシフェノキシカルボニルアミノ基など)、スルファモイルアミノ基(好ましくは、炭素数0から30の置換又は無置換のスルファモイルアミノ基、例えば、スルファモイルアミノ基、N, N-ジメチルアミノスルホニルアミノ基、N-n-オクチルアミノスルホニルアミノ基など)、アルキルスルホニル基又はアリールスルホニルアミノ基(好ましくは、炭素数1から30の置換又は無置換のアルキルスルホニルアミノ基、炭素数6から30の置換又は無置換のアリールスルホニルアミノ基、例えば、メチルスルホニルアミノ基、ブチルスルホニルアミノ基、フェニルスルホニルアミノ基、2, 3, 5-トリクロロフェニルスルホニルアミノ基、p-メチルフェニルスルホニルアミノ基など)、

## 【0025】

メルカプト基、アルキルチオ基(好ましくは、炭素数1から30の置換又は無置換のアルキルチオ基、例えばメチルチオ基、エチルチオ基、n-ヘキサデシルチオ基など)、アリールチオ基(好ましくは、炭素数6から30の置換又は無置換のアリールチオ基、例えば、フェニルチオ基、p-クロロフェニルチオ基、m-メトキシフェニルチオ基など)、ヘテロ環チオ基(好ましくは、炭素数2から30の置換又は無置換のヘテロ環チオ基、例えば、2-ベンゾチアソリルチオ基、1-フェニルテトラゾール-5-イルチオ基など)、スルファモイル基(好ましくは、炭素数0から30の置換又は無置換のスルファモイル基、例えば、N-エチルスルファモイル基、N-(3-ドデシルオキシプロピル)スルファモイル基、N, N-ジメチルスルファモイル基、N-アセチルスルファモイル基、N-ベンゾイルスルファモイル基、N-(N'-フェニルカルバモイル)スルファモイル基など)、アルキルスルフィニル基又はアリールスルフィニル基(好ましくは、炭素数1から30の置換又は無置換のアルキルスルフィニル基、炭素数6から30の置換又は無置換のアリールスルフィニル基、例えば、メチルスルフィニル基、エチルスルフィニル基、フェニルスルフィニル基、p-メチルフェニルスルフィニル基など)、

## 【0026】

アルキルスルホニル基又はアリールスルホニル基（好ましくは、炭素数1から30の置換又は無置換のアルキルスルホニル基、炭素数6から30の置換又は無置換のアリールスルホニル基、例えば、メチルスルホニル基、エチルスルホニル基、フェニルスルホニル基、p-メチルフェニルスルホニル基など）、アシル基（好ましくは、ホルミル基、炭素数2から30の置換又は無置換のアルキルカルボニル基、炭素数7から30の置換又は無置換のアリールカルボニル基、例えば、アセチル基、ピバロイル基、2-クロロアセチル基、ステアロイル基、ベンゾイル基、p-n-オクチルオキシフェニルカルボニル基など）、アリールオキシカルボニル基（好ましくは、炭素数7から30の置換又は無置換のアリールオキシカルボニル基、例えば、フェノキシカルボニル基、o-クロロフェノキシカルボニル基、m-ニトロフェノキシカルボニル基、p-t-ブチルフェノキシカルボニル基など）、アルコキシカルボニル基（好ましくは、炭素数2から30の置換又は無置換アルコキシカルボニル基、例えば、メトキシカルボニル基、エトキシカルボニル基、t-ブトキシカルボニル基、n-オクタデシルオキシカルボニル基など）、カルバモイル基（好ましくは、炭素数1から30の置換又は無置換のカルバモイル基、例えば、カルバモイル基、N-メチルカルバモイル基、N,N-ジメチルカルバモイル基、N,N-ジ-n-オクチルカルバモイル基、N-(メチルスルホニル)カルバモイル基など）、ホスホノ基、ホスホナート基、被標識物質と共有結合形成可能な基（例えば、イソチオシアナート基、イソシアナート基、サクシンイミジルエステル基、ハロゲン置換トリアジニル基、ハロゲン置換ピリミジニル基、スルホニルハライド基、 $\alpha$ -ハロアセチル基、マレイミジル基、アジリジニルなど）を挙げることができる。

## 【0027】

上記の官能基が置換基を有する場合、置換基としては、例えば上記に説明した基又はスルホン酸基若しくはその塩を用いることができる。上記の官能基上の置換基の例としては、スルホン酸基又はその塩のほか、アルキルカルボニルアミノスルホニル基、アリールカルボニルアミノスルホニル基、アルキルスルホニルアミノカルボニル基、又はアリールスルホニルアミノカルボニル基などが挙げられる。より具体的には、上記の官能基上の置換基として、スルホン酸基若しくはその

塩、メチルスルホニルアミノカルボニル基、p-メチルフェニルスルホニルアミノカルボニル基、アセチルアミノスルホニル基、又はベンゾイルアミノスルホニル基などが挙げられるが、置換基としてはスルホン酸基又はその塩が好ましい。

## 【0028】

$V^1$ と $V^2$ 、 $V^2$ と $V^3$ 、及び $V^4$ と $V^5$ は互いに連結して飽和又は不飽和の環を形成してもよい。このようにして形成される環としては、例えば、5員、6員、又は7員環が好ましい。また、環は1又は2以上のヘテロ原子（本明細書においてヘテロ原子という場合、例えば、酸素原子、窒素原子、硫黄原子、又は金属原子などを意味する。）を含んでいてもよく、2個以上のヘテロ原子を含む場合にはそれらは同一でも異なっていてもよい。また、形成される環の任意の位置には $V^1$ などについて説明した置換基が1又は2個以上存在していてもよく、2個以上の置換基が存在する場合には、それらは同一でも異なっていてもよい。

## 【0029】

$V^1$ 、 $V^2$ 、 $V^3$ 、 $V^4$ 、及び $V^5$ として好ましいものは、ハロゲン原子、炭素数1ないし6のアルキル基、炭素数2ないし30のアルケニル基、炭素数2ないし30のアルキニル基、炭素数6ないし20のアリール基、ヘテロ環基（5又は6員の置換又は無置換のヘテロ環基であり、芳香族又は非芳香族のいずれでもよく、好ましくは炭素数3から30の5又は6員の芳香族のヘテロ環基）、炭素数1から30のアルキルチオ基、炭素数6から30のアリールチオ基、炭素数2から30の置換又は無置換のヘテロ環チオ基、炭素数0から30のスルファモイル基、炭素数1から30のアルキルスルホニル基、6から30のアリールスルホニル基である。また、被標識物質と共有結合形成可能な基であるイソチオシアナート基、イソシアナート基、サクシンイミジルエステル基、ハロゲン置換トリアジニル基、ハロゲン置換ピリミジニル基、スルホニルハライド基、 $\alpha$ -ハロアセチル基、マレイミジル基、アジリジニル基も好ましい。

## 【0030】

$V^1$ 、 $V^2$ 、 $V^3$ 、 $V^4$ 、及び $V^5$ としてさらに好ましいのは、ハロゲン原子、炭素数1ないし6のアルキル基、炭素数2ないし30のアルキニル基、炭素数6ないし20のアリール基、ヘテロ環基、炭素数1から30のアルキルチオ基、炭素数6から

30のアリールチオ基、炭素数2から30の置換若しくは無置換のヘテロ環チオ基、又は上記に説明した被標識物質と共有結合形成可能な基である。

【0031】

一般式(I)において、 $R^1$ としては、例えば水素原子、炭素原子数が1ないし20のアルキル基（例えば、メチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、シクロヘキシル基など）、炭素原子数6ないし20のアリール基（例えば、フェニル基、トリル基、ナフチル基など）、炭素原子数1ないし10のヘテロ環基（例えば、2-ピリジル基、4-ピリジル基、ピラゾリル基、トリアゾリル基、テトラゾリル基など）を用いることができる。上記のアルキル基、アリール基、又はヘテロ環基上の任意の位置には1又は2個以上の置換基が存在していてもよい。置換基の種類は特に制限されず、上記 $V^1$ などについて説明した基、スルホン酸基若しくはその塩のほか、被標識物質を共有結合、イオン結合、水素結合等により標識するための反応性置換基が存在していてもよい。

【0032】

標識される物質としては、抗体、タンパク、ペプチド、酵素基質、ホルモン、リンフォカイン、代謝産物、レセプター、抗原、ハプテン、レクチン、アビジン、ストレプタビジン、トキシン、炭水化物、多糖類、核酸、デオキシ核酸、誘導核酸、誘導デオキシ核酸、DNAフラグメント、RNAフラグメント、誘導DNAフラグメント、誘導RNAフラグメント、天然薬物、ウイルス粒子、バクテリア粒子、ウイルス成分、イースト成分、血液細胞、血液細胞成分、バクテリア、バクテリア成分、天然若しくは合成脂質、薬物、毒薬、環境汚染物質、重合体、重合体粒子、ガラス粒子、プラスチック粒子、重合体膜などを含む物質を挙げることができる。これらの物質を共有結合、イオン結合、又は水素結合などにより標識するための反応性置換基としては、例えば、サクシンイミジルエステル基、ハロゲン置換トリアジニル基、ハロゲン置換ピリミジニル基、スルホニルハライド基、 $\alpha$ -ハロアセチル基、マレイミジル基、アジリジニル基などが挙げられる。

【0033】

$R^1$ としては、好ましくは炭素原子数が1ないし20の置換又は無置換のアルキル基であり、さらに好ましくは炭素原子数が1ないし20の置換アルキル基である

## 【0036】

一般式(II)において、 $V^1$ 、 $V^2$ 、 $V^3$ 、 $V^4$ 、 $V^5$ 、 $V^6$ 、 $V^7$ 、 $V^8$ 、 $V^9$ 、及び $V^{10}$ は一般式(I)に記載の $V^1$ と同義である。 $V^1$ から $V^{10}$ はそれぞれ独立であり、ただし $V^1$ 、 $V^2$ 、 $V^3$ 、 $V^4$ 、及び $V^5$ が同時に水素原子となることはない。 $R^1$ 及び $R^2$ はそれぞれ独立であり、一般式(I)の $R^1$ と同義である。 $R^3$ 、 $R^4$ 、 $R^5$ 、及び $R^6$ はそれぞれ独立であり、一般式(I)の $R^3$ 及び $R^4$ と同義である。

## 【0037】

一般式(II)において、 $L^1$ 、 $L^2$ 、及び $L^3$ は置換又は無置換のメチル基を示す。メチル基上に存在する置換基としては、例えば、置換又は無置換の炭素原子数1ないし15、好ましくは炭素原子数1ないし10、特に好ましくは炭素原子数1ないし5のアルキル基（例えば、メチル基、エチル基、カルボキシエチル基など）、置換又は無置換の炭素原子数6ないし30、好ましくは炭素原子数6ないし20、さらに好ましくは炭素原子数6ないし15のアリール基（例えば、フェニル基、 $\alpha$ -カルボキシフェニル基など）、置換又は無置換の炭素原子数3ないし20、好ましくは炭素原子数4ないし15、さらに好ましくは炭素原子数6ないし10の複素環基（例えば、 $N,N$ -ジメチルバルビツール酸基など）、ハロゲン原子（例えば、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子など）、炭素原子数1ないし20、好ましくは1ないし15、さらに好ましくは1ないし10のアルコキシ基（例えば、メトキシ基、エトキシ基など）、炭素原子数0ないし20、好ましくは炭素原子数2ないし15、さらに好ましくは炭素原子数4ないし15のアミノ基（例えば、メチルアミノ基、ジメチルアミノ基、 $N$ -メチル- $N$ -フェニルアミノ基、 $N$ -メチルピペラジノ基など）、炭素原子数1ないし15、好ましくは炭素原子数1ないし10、さらに好ましくは炭素原子数1から8のアルキルチオ基（例えば、メチルチオ基、エチルチオ基など）、炭素原子数6ないし20、好ましくは炭素原子数6ないし18、さらに好ましくは炭素原子数6ないし15のアリルチオ基（例えば、フェニルチオ基、 $p$ -メチルチオ基など）などが挙げられる。

## 【0038】

本発明の化合物を診断用途に用いる場合には、上述の置換基にさらにサクシンイミジルエステル基、ハロゲン置換トリアジニル基、ハロゲン置換ピリミジニル基

。アルキル基上の好ましい置換基としては、上記の反応性置換基のほか、カルボキシル基、アミノ基、ヒドロキシ基、メルカプト基、スルホン酸基若しくはその塩、又はアルキルアミド基（該アルキルアミド基のアルキル部分には上記反応性置換基、カルボキシル基、アミノ基、ヒドロキシ基、及びメルカプト基からなる群から選ばれる置換基が1又は2個以上置換していてもよい）などが挙げられる。

## 【0034】

一般式(I)において、Qはメチン色素発色団を形成するのに必要な原子群を示すが、メチン色素の種類は特に限定されない。好ましいメチン色素としては、例えば、シアニン色素、メロシアニン色素、ロダシアニン色素、3核メロシアニン色素、4核メロシアニン色素、アロポーラー色素、スチリル色素、スチリルベース色素、ヘミシアニン色素、ストレプトシアニン色素、ヘミオキソノール色素などが挙げられ、さらに好ましくは、シアニン色素、メロシアニン色素、ロダシアニン色素であり、特に好ましくはシアニン色素（電荷としてはカチオン、アニオン、ベタイン状態いずれでもよい）である。これらの色素の詳細についてはエフ・エム・ハーマー(F. M. Harmer)著「ヘテロサイクリック・コンパウンズ-シアニンダイズ・アンド・リレイテイド・コンパウンズ(Heterocyclic Compounds-Cyanine Dyes and Related Compounds)」、ジョン・ウイリー・アンド・サンズ(John Wiley and Sons)社-ニューヨーク、ロンドン、1964年刊、デー・エム・スター-マー(D.M. Sturmer)著「ヘテロサイクリック・コンパウンズ-スペシャル・トピックス・イン・ヘテロサイクリック・ケミストリー(Heterocyclic Compounds-Special Topics in Heterocyclic Chemistry)」、第18章、第14節、482から515頁、ジョン・ウイリー・アンド・サンズ(John Wiley and Sons)社-ニューヨーク、ロンドン、1977年刊等に記載されている。

## 【0035】

シアニン色素、メロシアニン色素、ロダシアニン色素としては米国特許第5,340,694号明細書第21及び22頁の(XI)、(XII)、(XIII)に示されているものが好ましい。さらに好ましくは、本発明の一般式(I)が一般式(II)に示したシアニン色素構造をとる場合である。

一般式(V)において、 $R^1$ 、 $R^2$ 、M、及びqは一般式(II)のものとそれぞれと同義である。 $W^1$ 及び $W^2$ で示されるハロゲン原子、アルキニル基、アリール基、ヘテロ環基、アルキルチオ基、アリールチオ基は式(I)の $V^1$ などについて説明した基とそれぞれ同様であるが、ハロゲンを除く置換基上には少なくとも一つの酸基（例えば、スルホン酸基若しくはその塩、カルボン酸基、又はリン酸基など）が導入されていることが好ましい。酸基はアルキレン基等の連結基を介して上記のアルキニル基、アリール基、ヘテロ環基、アルキルチオ基、又はアリールチオ基に結合していてもよいが、好ましくは酸基が上記置換基上に直接結合している場合である。

#### 【0042】

本発明の化合物は、酸付加塩として存在する場合があり、置換基の種類によっては塩基付加塩として存在する場合もある。塩としては、例えば、塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩などの鉱酸塩、メタンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、酒石酸塩、クエン酸、マレイン酸塩などの有機酸塩のほか、ナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩などの金属塩、アンモニウム塩、トリエチルアミン塩などの有機アミン塩、グリシン塩などのアミノ酸塩などを挙げることができる。また、本発明の化合物は水和物又は溶媒和物として存在する場合があるが、これらの物質はいずれも本発明の範囲に包含される。また、本発明の化合物は置換基の種類に応じて1以上の不斉炭素を有する場合があるが、光学異性体やジアステレオ異性体などの立体異性体、立体異性体の混合物、ラセミ体などはいずれも本発明の範囲に包含される。

#### 【0043】

上記一般式で表される本発明の化合物の好ましい例を以下に示すが、本発明の範囲は下記の具体的化合物に限定されることはない。

#### 【0044】

、スルホニルハライド基、 $\alpha$ -ハロアセチル基、マレイミジル基、又はアジリジニル基などの反応性基が置換していることが好ましい。pは1、2、又は3を示す。pとして好ましくは1又は2であり、一般式(V)で示した構造に対応するp=1の場合が最も好ましい。

## 【0039】

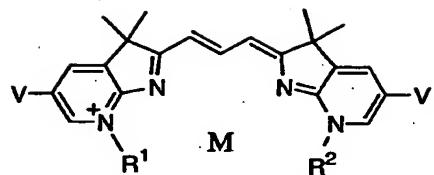
Mは対イオンを表わす。Mは陽イオンでも陰イオンでもよく、陽イオンとしてはナトリウムイオン、カリウムイオン、リチウムイオンなどのアルカリ金属イオン、テトラアルキルアンモニウムイオン、ピリジニウムイオンなどの有機イオンが挙げられる。陰イオンは無機陰イオンあるいは有機陰イオンのいずれであってもよく、ハロゲン陰イオン（例えば、フッ素イオン、塩素イオン、臭素イオン、ヨウ素イオンなど）、置換アリールスルホン酸イオン（例えば、p-トルエンスルホン酸イオン、p-クロルベンゼンスルホン酸イオンなど）、アリールジスルホン酸イオン（例えば、1,3-ベンゼンジスルホン酸イオン、1,5-ナフタレンジスルホン酸イオンなど）、アルキル硫酸イオン（例えば、メチル硫酸イオンなど）、硫酸イオン、チオシアン酸イオン、過塩素酸イオン、テトラフルオロホウ酸イオン、ピクリン酸イオン、酢酸イオン、トリフルオロメタンスルホン酸イオンなどが挙げられる。また、Mは水素イオンでもよい。対イオンとして好ましくはアンモニウムイオン、アルカリ金属イオン、ハロゲン陰イオン、置換アリールスルホン酸イオンであり、さらに好ましくはアルカリ金属イオン、ハロゲン陰イオン、置換アリールスルホン酸イオンである。qは分子の電荷を中和するのに必要な数を表わす。

## 【0040】

一般式(III)において、V<sup>1</sup>、V<sup>2</sup>、V<sup>3</sup>、R<sup>1</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、及びQは一般式(I)のものとそれぞれと同義である。一般式(IV)において、V<sup>1</sup>、V<sup>2</sup>、V<sup>3</sup>、V<sup>6</sup>、V<sup>7</sup>、V<sup>8</sup>、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、L<sup>1</sup>、L<sup>2</sup>、L<sup>3</sup>、M、p、及びqはそれぞれ一般式(II)のものと同義である。一般式(VI)において、V<sup>1</sup>、V<sup>2</sup>、V<sup>3</sup>、R<sup>1</sup>、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>、M、及びqはそれぞれ一般式(II)のものと同義である。一般式(VII)において、V<sup>1</sup>、V<sup>2</sup>、V<sup>3</sup>、R<sup>3</sup>、及びR<sup>4</sup>はそれぞれ一般式(II)のものと同義である。

## 【0041】

【化15】



No.	V	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	M
I-1		-CH <sub>3</sub>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -COOH	K <sup>+</sup>
I-2			-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -COOH	2K <sup>+</sup>
I-3		-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -COO-N(CO)C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -	2Na <sup>+</sup>
I-4		-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>		2Li <sup>+</sup>
I-5			-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -NCS	2K <sup>+</sup>
I-6			-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -CONH-C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> -	2K <sup>+</sup>
I-7		H	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -COOH	Na <sup>+</sup>
I-8		-CH <sub>3</sub>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> -COOH	K <sup>+</sup>
I-9		-CH <sub>3</sub>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -CONH-(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -COOH	K <sup>+</sup>
I-10		-CH <sub>3</sub>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -N(C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> -N-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -COOH	K <sup>+</sup>

【0045】

【化17】

No.	V <sup>1</sup>	V <sup>7</sup>	M	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	M
I-16						
I-17						
I-18						
I-19						
I-20						
I-21						

【0047】

【化16】

No.	V <sup>1</sup>	V <sup>7</sup>	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	M	M	
						V <sup>1</sup>	V <sup>7</sup>
I-11							
I-12							
I-13							
I-14							
I-15							

【0046】

特2000-11745

【0048】

【化18】

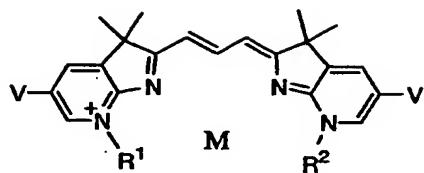
No.	V <sup>1</sup>	V <sup>7</sup>	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	M
I-22				—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —COOH	—
I-23				—(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	K <sup>+</sup>
I-24			H	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> —COOH
I-25					Na <sup>+</sup>
I-26					Na <sup>+</sup>

特2000-1174

【0050】

【0049】

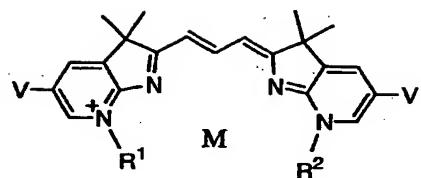
【化20】



No.	V	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	M
I-31	—CF <sub>3</sub>	—CH <sub>3</sub>	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —COO <sup>—</sup>	—
I-32	—CN		—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —COOH	—
I-33	—OH	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> —SO <sub>3</sub> <sup>—</sup>	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —COO—N—	—
I-34	—NO <sub>2</sub>	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> —SO <sub>3</sub> <sup>—</sup>	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —COO—N—	—
I-35	—COOH	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> —SO <sub>3</sub> <sup>—</sup>	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —NCS	—
I-36	—OCH <sub>3</sub>		—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —CONH—	K <sup>+</sup>
I-37	—O—		—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —COOH	—
I-38	—O—	—CH <sub>3</sub>	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —COO <sup>—</sup>	—
I-39	—O—	—CH <sub>3</sub>	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —CONH—	I <sup>—</sup>
I-40	—OCOCH <sub>3</sub>	—CH <sub>3</sub>	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —N—	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> COO <sup>—</sup>

【0051】

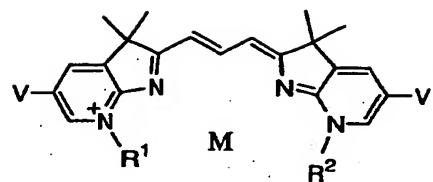
【化22】

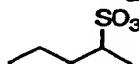
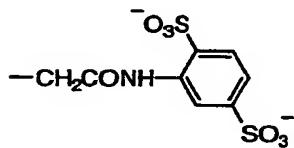
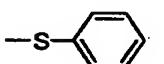
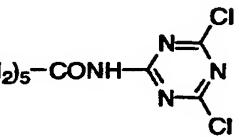


No.	V	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	M
I-51		-CH <sub>3</sub>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -COO <sup>-</sup>	—
I-52	-SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -COOH	—
I-53	-SOCH <sub>3</sub>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -COOH	—
I-54	-SO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -COOH	—
I-55	-COCH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -COO <sup>-</sup>	—
I-56	-COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	-CH <sub>3</sub>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -COO <sup>-</sup>	—
I-57	-COO--SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-CH <sub>3</sub>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -COO <sup>-</sup>	2K <sup>+</sup>
I-58	-CONH(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH	-CH <sub>3</sub>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -COO <sup>-</sup>	—
I-59	-PO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> -COOH	4Na <sup>+</sup>

【0052】

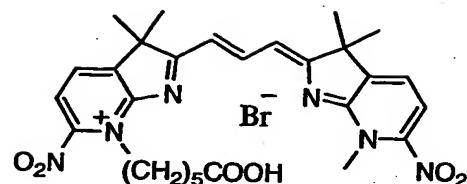
【化21】



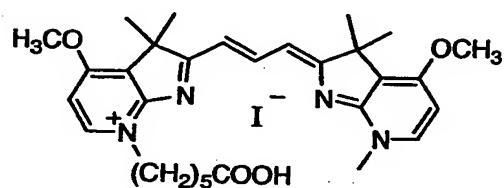
No.	V	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	M
I-41	—OCONH <sub>2</sub>	—CH <sub>3</sub>	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —COO <sup>—</sup>	—
I-42	—OCOOCH <sub>3</sub>	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> —SO <sub>3</sub> <sup>—</sup>	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —COOH	—
I-43	—OCOO—  —SO <sub>3</sub> <sup>—</sup>	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> —SO <sub>3</sub> <sup>—</sup>	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —NCS	2Na <sup>+</sup>
I-44	—N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> —SO <sub>3</sub> <sup>—</sup>	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —NCS	—
I-45	—NHCO(CH <sub>2</sub> )COOH	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> —SO <sub>3</sub> <sup>—</sup>	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> —SO <sub>3</sub> <sup>—</sup>	K <sup>+</sup>
I-46	—NHCONH <sub>2</sub>		—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —COOH	—
I-47	—NHCOOCH <sub>3</sub>	—CH <sub>3</sub>	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —COO <sup>—</sup>	—
I-48	—NHSO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	—CH <sub>3</sub>	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —COO <sup>—</sup>	—
I-49	—NHSO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>		—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —NCS	K <sup>+</sup>
I-50	—S— 		—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —CONH— 	—

【化23】

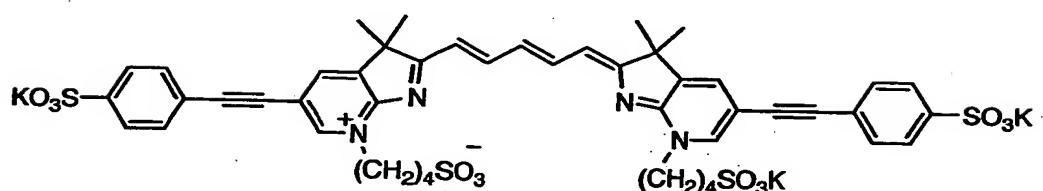
I-60



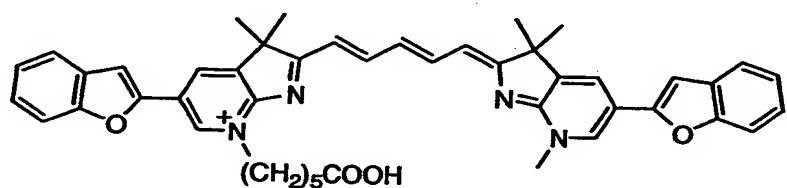
I-61



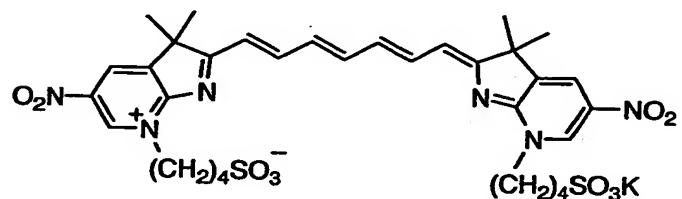
I-62



I-63



I-64



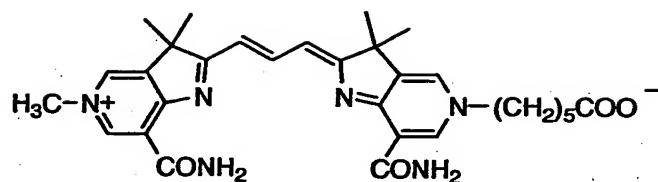
【0053】

【化19】

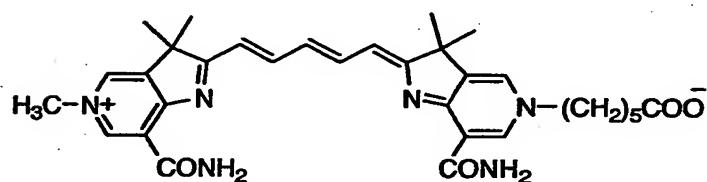
No.	V <sup>1</sup>	V <sup>7</sup>	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	M	M	
						27	28
I-27							
I-28							
I-29							
I-30							

【化24】

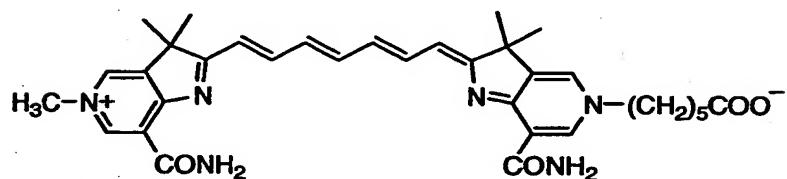
I-65



I-66



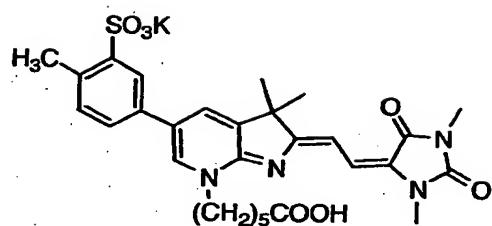
I-67



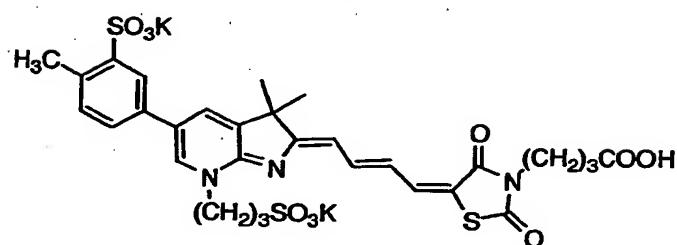
【0054】

【化25】

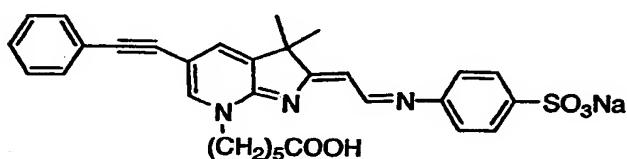
I-68



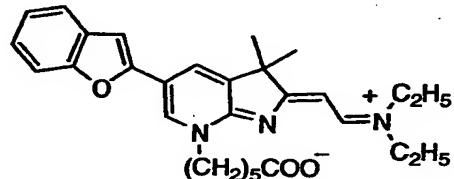
I-69



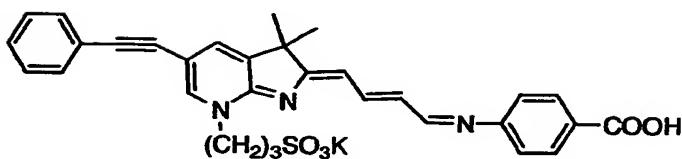
I-70



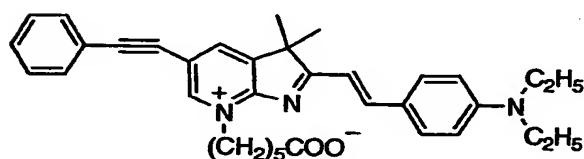
I-71



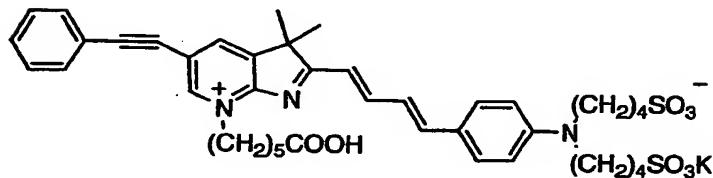
I-72



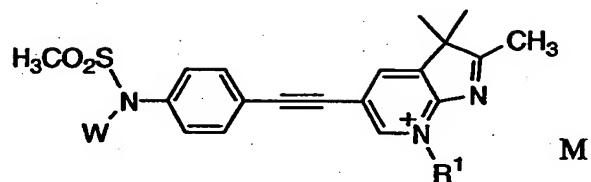
I-73



I-74



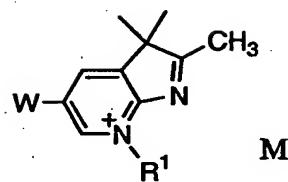
【化27】



No.	R <sup>1</sup>	W	M
VI-9		H	—
VI-10	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	H	—
VI-11		H	Na <sup>+</sup>
VI-12	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	Br <sup>-</sup>
VI-13		—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	—
VI-14	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	—
VI-15		—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> —COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Na <sup>+</sup>

【0057】

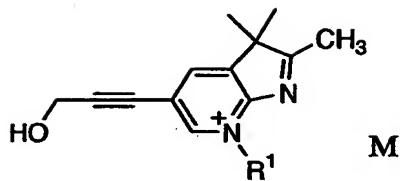
【化29】



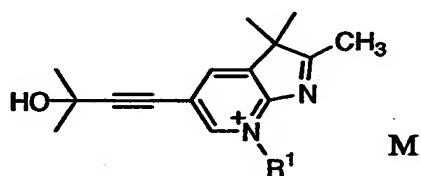
No.	W	R <sup>1</sup>	M
VI-22			—
VI-23		—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Br
VI-24			Na <sup>+</sup>
VI-25		—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	—
VI-26			Na <sup>+</sup>
VI-27			Na <sup>+</sup>
VI-28		—(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	—

【0059】

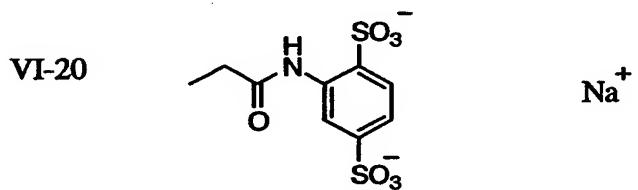
【化28】



No.	R <sup>1</sup>	M
VI-16		—
VI-17	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Br <sup>-</sup>



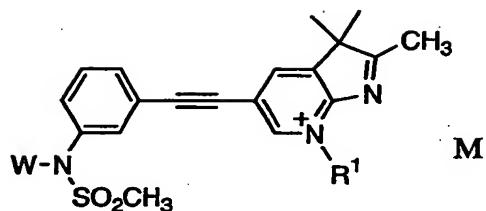
No.	R <sup>1</sup>	M
VI-18		—
VI-19		K <sup>+</sup>



VI-21	—(CH <sub>2</sub> ) <sub>5</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	Br <sup>-</sup>
-------	---	-----------------

【0058】

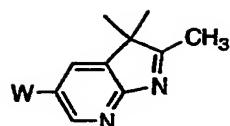
【化30】



No.	R <sup>1</sup>	W	M
VI-29		H	—
VI-30		H	—
VI-31		H	Na <sup>+</sup>
VI-32		H	Br <sup>-</sup>
VI-33			—
VI-34			—
VI-35			Na <sup>+</sup>

【0060】

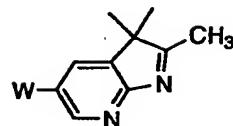
【化32】



No.	W	No.	W
VII-25	$-\text{OCOO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_3\text{K}$	VII-36	$-\text{SO}_2\text{CH}_3$
VII-26	$-\text{N}(\text{CH}_3)_2$	VII-37	$-\text{COCH}_3$
VII-27	$-\text{NHCO}(\text{CH}_2)\text{COOH}$	VII-38	$-\text{COOC}_2\text{H}_5$
VII-28	$-\text{NHCONH}_2$	VII-39	$-\text{COO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_3^-$
VII-29	$-\text{NHCOOCH}_3$	VII-40	$-\text{CONH}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$
VII-30	$-\text{NHSO}_2\text{NH}_2$	VII-41	$-\text{PO}_3^{2-}$
VII-31	$-\text{NHSO}_2\text{CH}_3$	VII-42	$-\text{Cl}$
VII-32	$-\text{S}-\text{C}_6\text{H}_5$	VII-43	$-\text{Br}$
VII-33	$-\text{S}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{N}$		
VII-34	$-\text{SO}_2\text{NH}_2$		
VII-35	$-\text{SOCH}_3$		

【0062】

【化31】

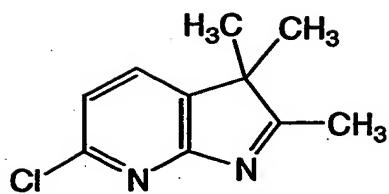


No.	W	No.	W
VII-1		VII-11	
VII-2		VII-12	
VII-3		VII-13	
VII-4		VII-14	
VII-5		VII-15	
VII-6		VII-16	
VII-7		VII-17	
VII-8		VII-18	
VII-9		VII-19	
VII-10		VII-20	
		VII-21	
		VII-22	
		VII-23	
		VII-24	

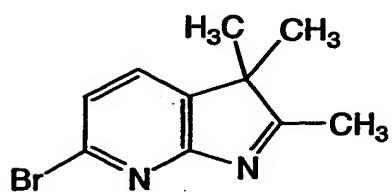
【0061】

【化34】

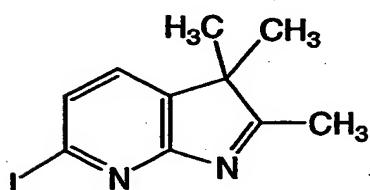
VII-47



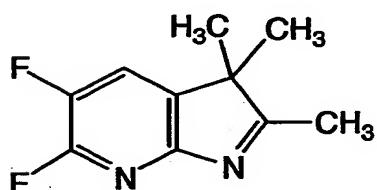
VII-48



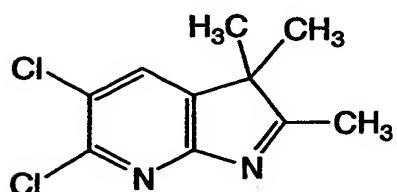
VII-49



VII-50



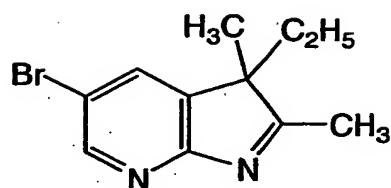
VII-51



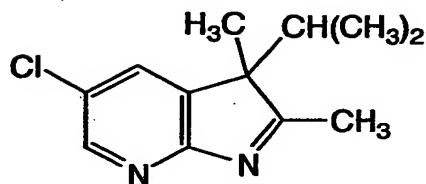
【0064】

【化36】

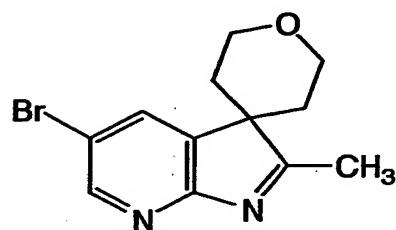
VII-57



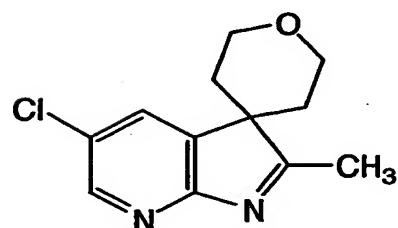
VII-58



VII-59



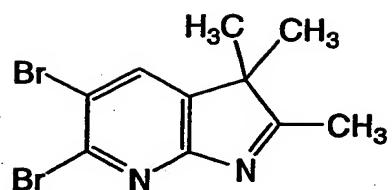
VII-60



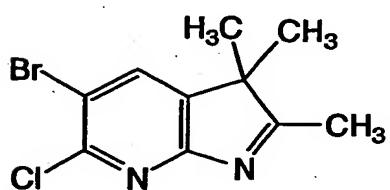
【0066】

【化35】

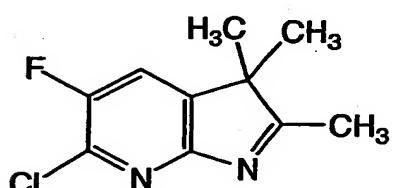
VII-52



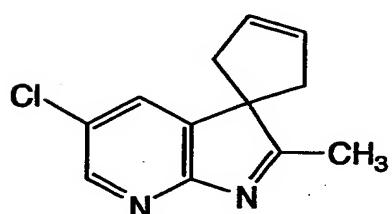
VII-53



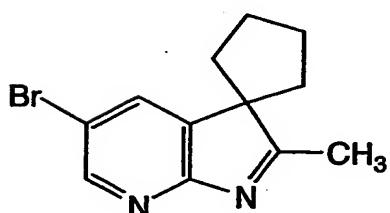
VII-54



VII-55



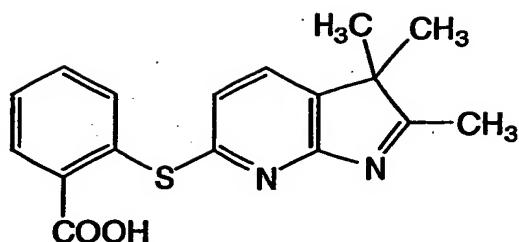
VII-56



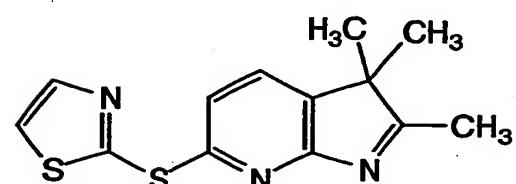
【0065】

【化38】

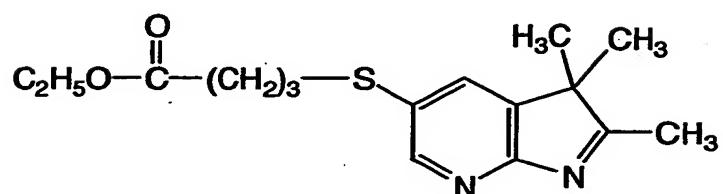
VII-66



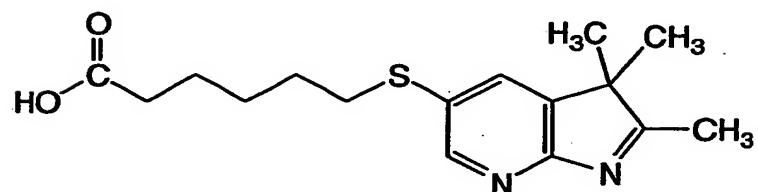
VII-67



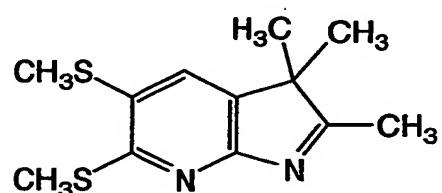
VII-68



VII-69



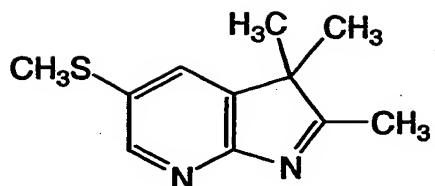
VII-70



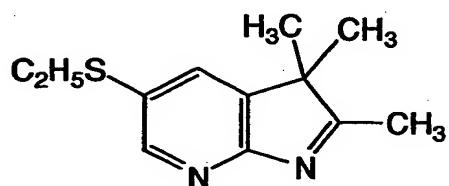
【0068】

【化37】

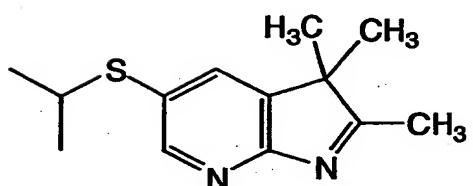
VII-61



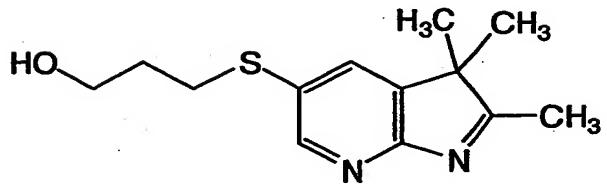
VII-62



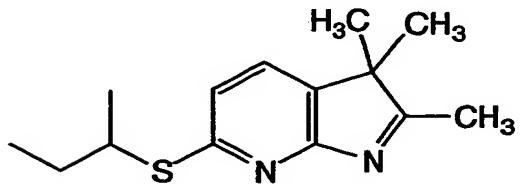
VII-63



VII-64



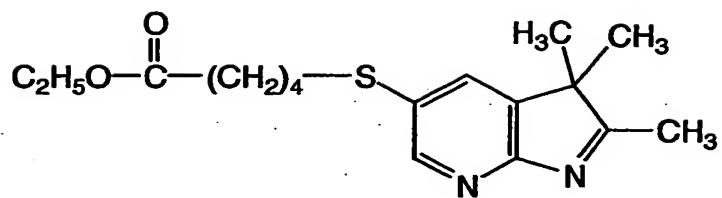
VII-65



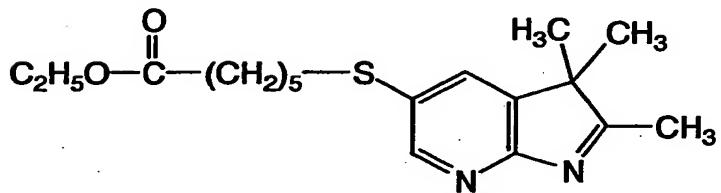
【0067】

【化39】

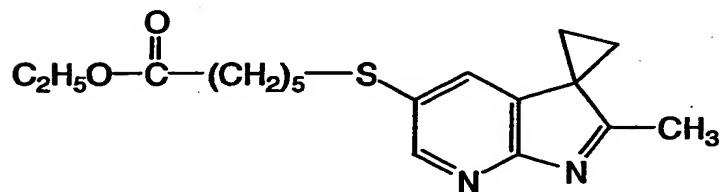
VII-71



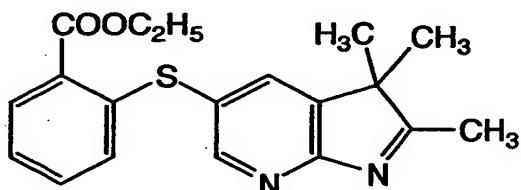
VII-72



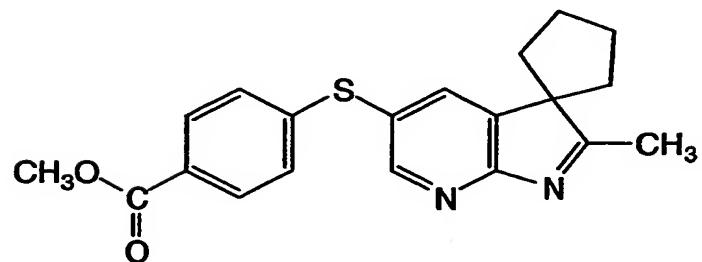
VII-73



VII-74

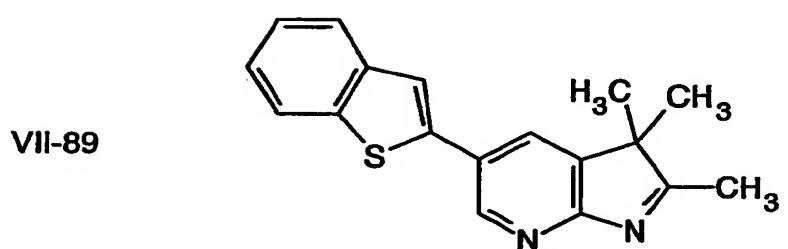
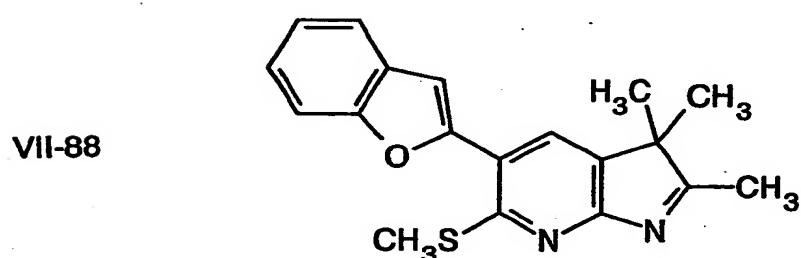
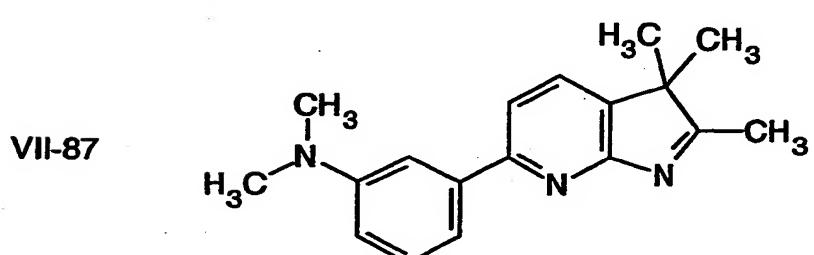
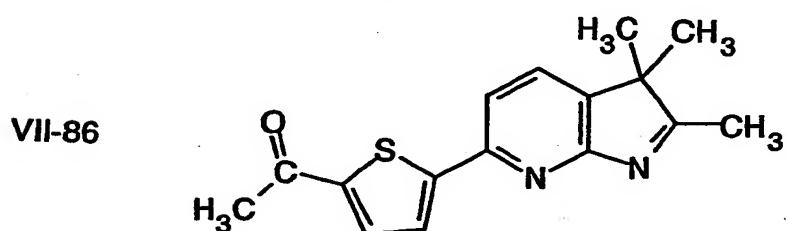
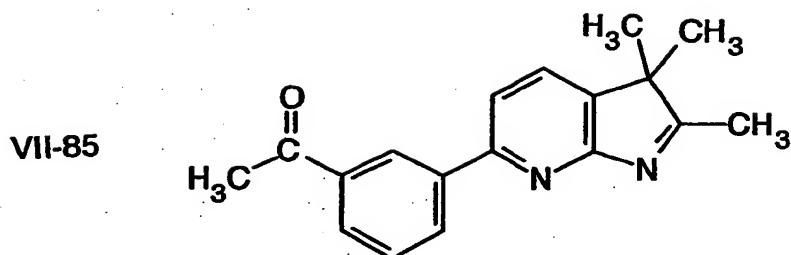


VII-75



【0069】

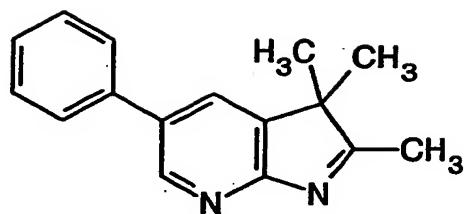
【化4 2】



【0072】

【化41】

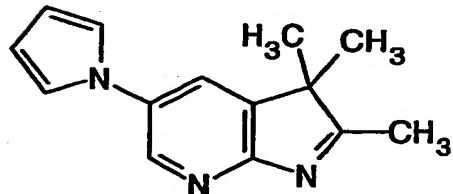
VII-80



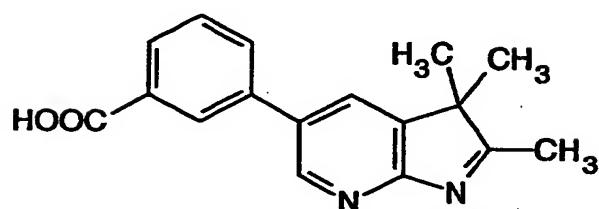
VII-81



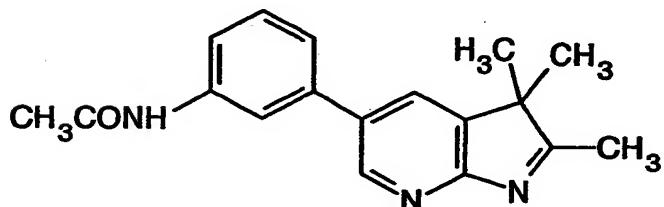
VII-82



VII-83



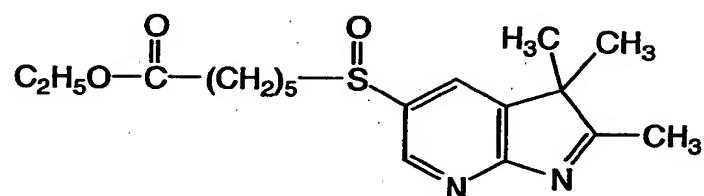
VII-84



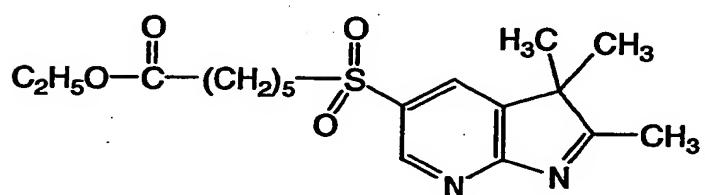
【0071】

【化40】

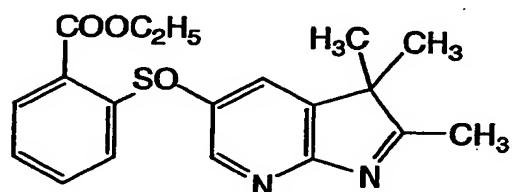
VII-76



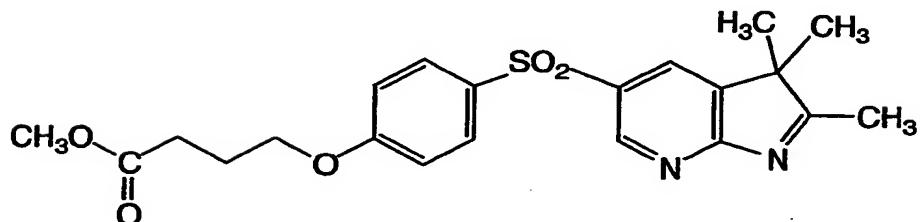
VII-77



VII-78



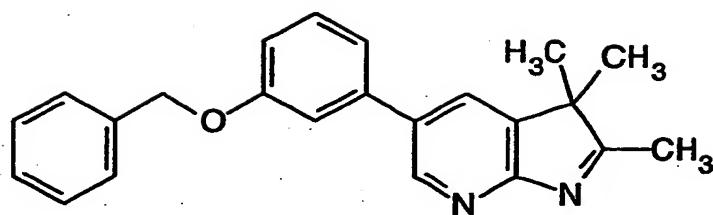
VII-79



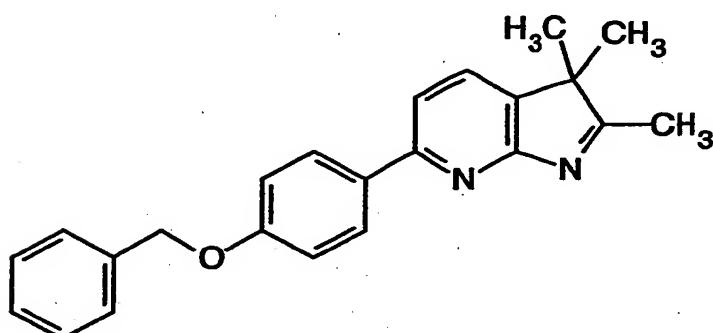
【0070】

【化43】

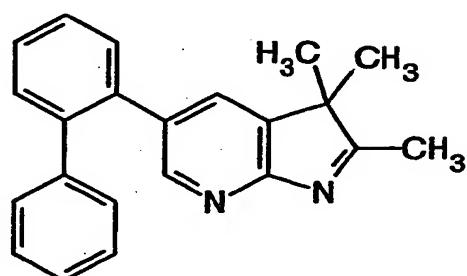
VII-90



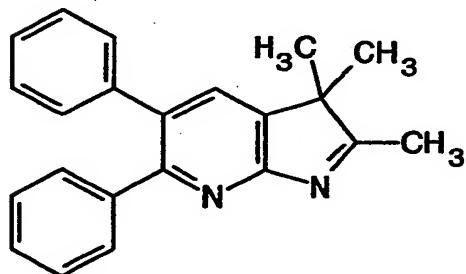
VII-91



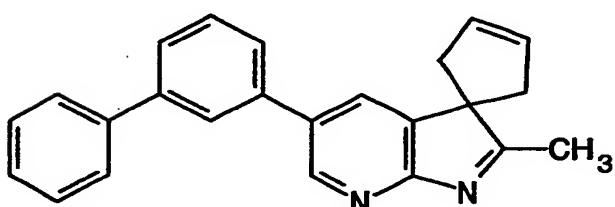
VII-92



VII-93



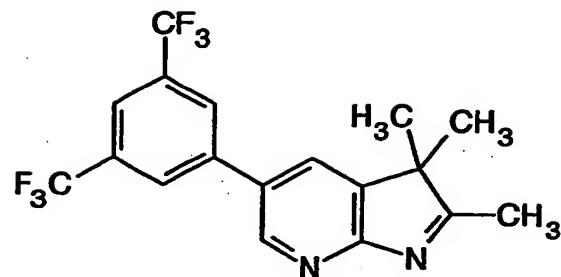
VII-94



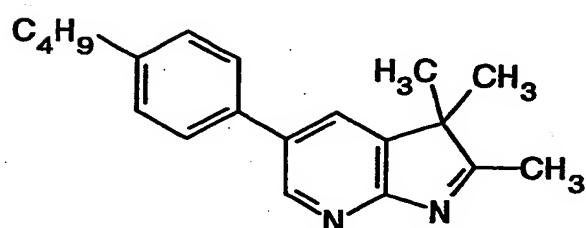
【0073】

【化44】

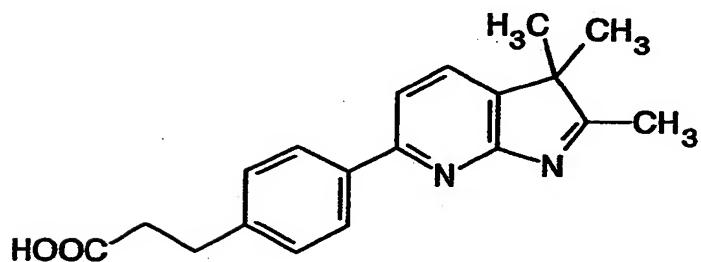
VII-95



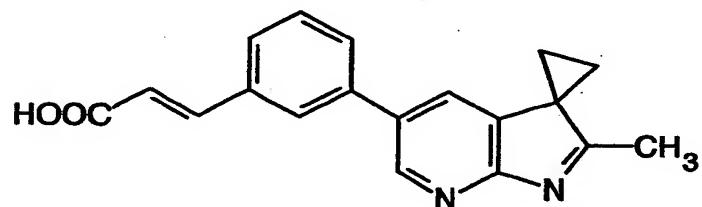
VII-96



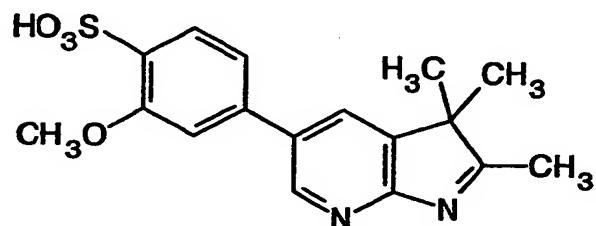
VII-97



VII-98



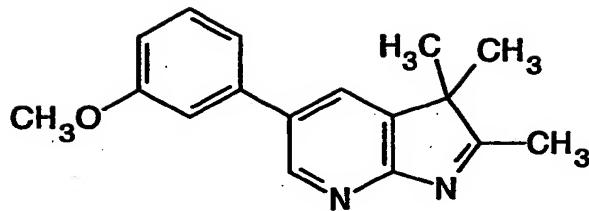
VII-99



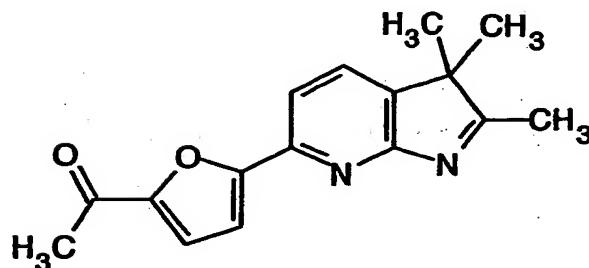
【0074】

## 【化45】

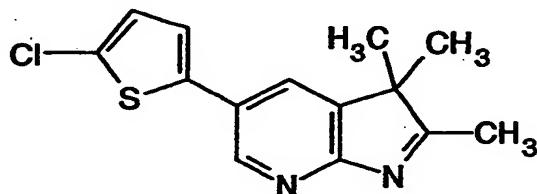
VII-100



VII-101



VII-102



## 【0075】

上記一般式で表される本発明の化合物は、蛍光標識試薬として有用である。本発明の化合物で標識可能な被標識物質は特に限定されず、低分子化合物、高分子化合物、有機化合物、無機化合物、生体物質、天然有機化合物、微生物などいかなる物質を標識の対象とすることが可能である。より具体的には、抗体、タンパク質、ペプチド、酵素基質、ホルモン、リンフォカイン、代謝産物、レセプター、抗原、ハプテン、レクチン、アビジン、ストレプトアビジン、トキシン、炭水化合物、多糖類、核酸、デオキシ核酸、誘導核酸、誘導デオキシ核酸、DNAフラグメント、RNAフラグメント、誘導DNAフラグメント、誘導RNAフラグメント、天然薬物、ウイルス粒子、バクテリア粒子、ウイルス成分、イースト成分、血液細胞、血液細胞成分、バクテリア、バクテリア成分、天然又は非天然脂質、

被標識物質に蛍光標識試薬を導入するための手法は種々知られており、本発明の化合物を蛍光標識試薬として用いる場合には、当業者に利用可能な手段を適宜選択して利用することが可能である。例えば、被標識物質中のアミノ基、水酸基などの官能基と本発明の化合物中のカルボキシル基、活性エステル基等の反応性置換基をイオン結合的又は共有結合的に直接結合させるか、あるいは被標識物質の一部にリンカーチェーンを導入するなどの化学修飾を行った後に本発明の化合物を反応させればよい。あるいは核酸塩基との水素結合により一本鎖DNA又はRNAを標識したり、二本鎖DNAにインターラートさせることも可能である。反応後の標識物質は、クロマトグラフィー、電気泳動、再結晶、洗浄などの汎用の分離技術により精製することができる。

## 【0078】

本発明の化合物をDNA解析に用いる場合には、例えば、ルース (Jerry L. Ruth, DNA, 3, 123 (1984)) に記載の方法でプローブ又はプライマーに本発明の化合物を取り込ませることができる。タンパク等の親水性多官能基高分子と反応性置換基（例えば、活性エステル、イソチオシアナート、ヨードアセチルなど）を有する色素化合物と反応させて標識する方法は、例えば、米国特許第5569587号明細書に記載された方法に順じて容易に行うことができる。活性エステル化されていないカルボキシル基を有する色素は、例えば、特開平6-222059号公報に記載された方法に順じて標識することができる。

## 【0079】

また、例えば本発明の化合物で抗腫瘍抗体を標識し、標識された抗体を組織や臓器に接触させることによって、癌細胞又は癌組織の存在を証明することができる。診断には、組織切片などをパラフィン法などの適宜の方法で固定化して顕微鏡下に観察してもよいが、内視鏡を用いて生体組織を免疫化学的に染色して観察することもできる。また、最近、近赤外線蛍光物質を用いた蛍光イメージング法が種々提案されており（例えば、特開平9-309845号公報；J. Neurosurg., 87, pp.738-745, 1997; 医用電子と生体工学, 34, pp.316-322, 1996など）、本発明の化合物は、蛍光イメージング手法を用いた診断薬として利用が可能である。

合成薬物、毒薬、環境汚染物質、重合体、重合体粒子、ガラス粒子、プラスチック粒子、重合体膜などを被標識物質として挙げることができる。

## 【0076】

これらのうち、好ましい被標識物質は、抗体、タンパク質、ペプチド、ヌクレオチド、ホルモン、糖類、脂質、ビタミン、アルカロイド、抗生物質などである。タンパク質又はペプチドの具体例としては、例えば、IgG、IgA、IgM、IgD、IgE等の免疫グロブリン、種々のタンパク質や白血球の膜抗原に対するモノクロナル抗体、バーオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ等の酵素を挙げることができ、ヌクレオチドの具体例としては、例えば、DNA、RNA、合成オリゴヌクレオチド、合成ポリヌクレオチド、ATP、CTP、GTP、UTP、dATP、dCTP、dGTP、dTTP、dUTP、ddATP、ddCTP、ddGTP、ddTTP、ddUTP、又はこれらの誘導体などを挙げることができる。糖類の具体例としては、例えば、グリコーゲン、デンプン、マンナン等の多糖類のほか、オリゴ糖やグルコース、マンノース等の单糖類などを挙げることができ、脂質としては、例えば、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、脂肪、脂肪酸などを挙げることができる。ホルモンとしては、例えば、インシュリン、成長ホルモン、上皮細胞成長因子、オキシトシン、バソプレッシン、セクレチン等のペプチド性ホルモン、アンドロゲン、エストロゲン等のステロイドホルモン、アドレナリン、ノルアドレナリン等のカテコールアミン類などを挙げることができ、ビタミンとしては、例えば、ビタミンA、ビタミンB（B1、B2、B6、B12など）、ビタミンC、ビタミンD、ビタミンE、ビオチン、葉酸などを挙げることができる。アルカロイドとしては、例えば、アヘンアルカロイド、アトロピン等のトロパンアルカロイド、ビンプラスチニ等のインドールアルカロイド、オウレン等のイソキノリンアルカロイドなどを挙げることができ、抗生物質としてはペニシリン、セファロスボリン、カナマイシン、エリスロマイシンなどを挙げができる。これらの被標識物質のうち、診断用に用いることができる物質（本明細書において「診断用物質」という。例えば、抗体、蛋白質、ペプチドなど）は好ましい被標識物質である。

## 【0077】

## 【0080】

本発明の化合物により標識された診断用物質（例えば標識化抗体など）を診断用の医薬として用いる場合には、1種又は2種以上の製剤用添加物を用いて医薬用組成物の形態として調製することが好ましい。例えば、緩衝剤、溶解補助剤、pH調節剤、賦形剤、防腐剤など適宜の製剤用添加物を用いて、固体剤又は溶液剤などの形態の医薬組成物を調製することができる。診断又は治療に適する医薬組成物の形態及びその製造方法は、当業者が適宜選択可能である。さらに、本発明の化合物を血管に投与して生体内情報（例えば癌組織などの存在）を可視化する蛍光造影剤として用いることも可能である。

## 【0081】

本発明の化合物の製造方法は特に限定されず、種々のルートにより製造することが可能である。一般式(VII)で表わされる化合物はフィッシャーのインドール合成として著名な反応を用いて製造できる。フィッシャーのインドール合成に関しては多くの成書に詳しく解説されているが、反応条件（温度、溶媒、時間、反応試剤など）に関してはR. J. Sudberg著「The Chemistry of Indoles」(Academic Press, New York)1970年およびそこで引用されている文献を参考にすることができる。本発明の化合物の製造では、通常のインドールまたはインドレニン合成よりも反応に高温を必要とする場合が多いが、反応温度は当業者により適宜選択可能である。

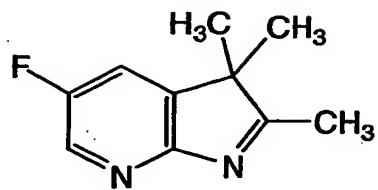
## 【0082】

一般式(VII)で表される化合物の製造では、ハロゲンその他の離脱基を導入したインドレニンに対する芳香族やアセチレンカップリング反応も用いることができる。カップリング反応についてはChemical Review, 95巻、2457頁(1995年)およびここで引用されている文献に記載の「有機ホウ素化合物のパラジウム触媒によるクロスカップリング反応」やJournal of Organic Chemistry, 55巻、63頁(1990年)に記載のHeck反応として知られるを応用することにより容易に目的物を得ることができる。一般式(VI)で表わされる化合物は一般式(VII)で表わされる化合物を種々のアルキル化剤で処理することにより合成することができる。

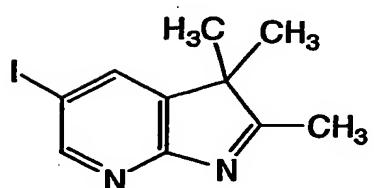
## 【0083】

【化33】

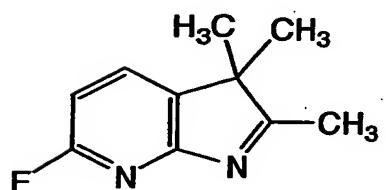
VII-44



VII-45



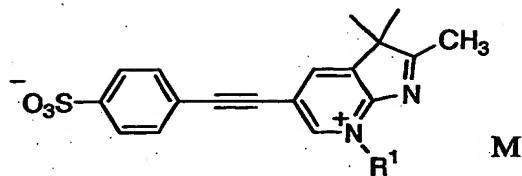
VII-46



【0063】

【0055】

【化26】



No.	$R^1$	M
VI-1	$-\text{CH}_3$	—
VI-2		$\text{nBu}_3\text{NH}^+$
VI-3	$-(\text{CH}_2)_2\text{SO}_3^-$	$\text{nBu}_3\text{NH}^+$
VI-4	$-(\text{CH}_2)_4\text{SO}_3^-$	$\text{nBu}_3\text{NH}^+$
VI-5		$\text{nBu}_3\text{NH}^+$
VI-6		$\text{nBu}_3\text{NH}^+$
VI-7	$-(\text{CH}_2)_5-\text{COOC}_2\text{H}_5$	—
VI-8	$-(\text{CH}_2)_{11}-\text{COOCH}_3$	—

【0056】

率68%。

H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>)、δ；7.61(d,2H), 7.43(d,2H), 4.20(s,1H)

【0089】

(3) 化合物VII-1の合成

化合物VII-43(3.3 g)と化合物VII-1c(5.0 g)を窒素気流下でDMF 50 mlに溶解させ、炭酸カリウム(6.2 g)とテトラキストリフェニルホスフィンパラジウム(0.52 g)を加えて90℃で6時間反応させた。反応液に酢酸エチルを加えると生じる無機塩を含む結晶を濾過した。該結晶に水200 mlとクロロホルム200 ml、塩酸5 ml、トリブチルアミン10 mlを加えて分液すると目的物はトリブチルアミン塩としてクロロホルム層に抽出される。クロロホルム層を二回水洗した後濃縮し、残渣を酢酸エチル/ヘキサンから結晶化させVII-1を得た。収量7.0 g、収率89%。

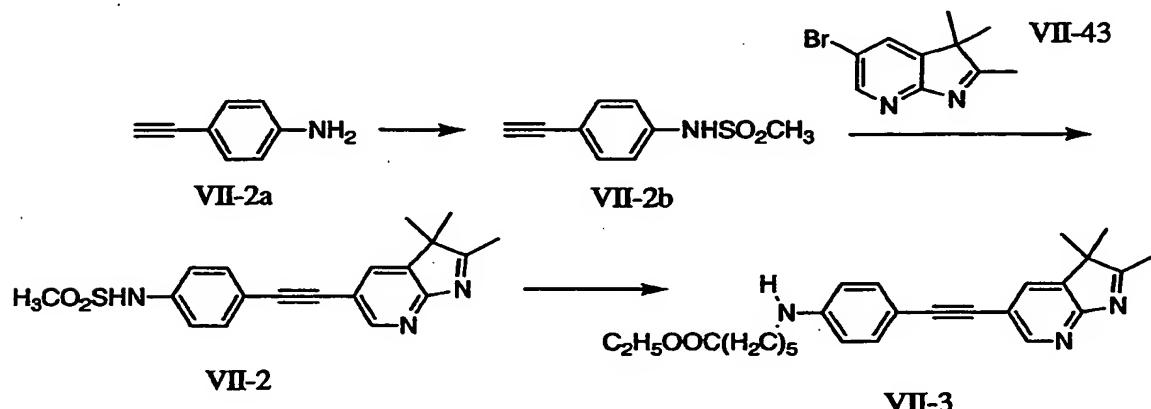
H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>)、δ；8.50(d,1H), 8.05(d,1H), 7.60(d,2H), 7.45(d,2H), 2.35(s,3H), 1.35(s,6H)

【0090】

実施例4：化合物VII-2及び化合物VII-3の合成

下記のルートで化合物VII-2およびVII-3を合成した。

【化47】



【0091】

(1) 化合物VII-2bの合成

化合物VII-2a(11.7 g)を酢酸エチル100 mlと重曹水100 mlの2層系に溶解さ

## 【0086】

実施例2：化合物VII-13から31および化合物VII-34,35の合成

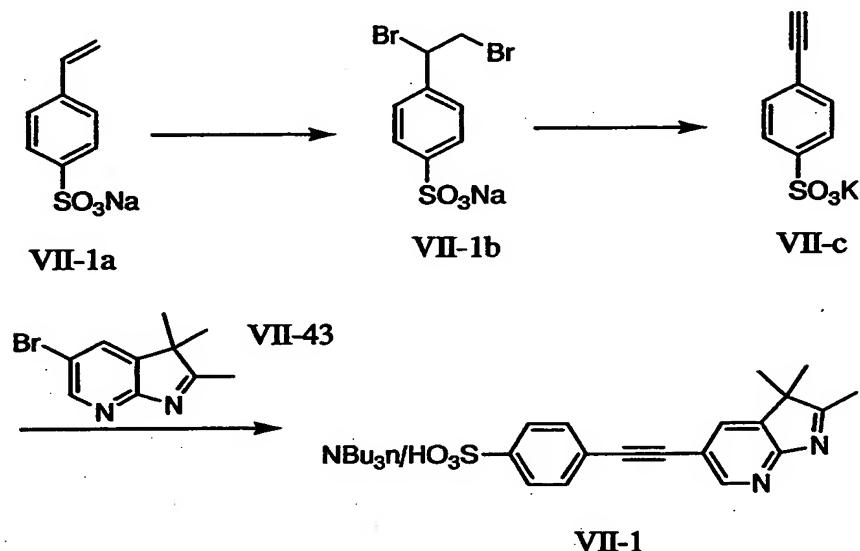
化合物VII-13から31、並びに化合物VII-34及び35は、対応するヒドラジノピリジンからVII-43と同様な条件で低収率ながら合成することができた。各化合物の構造はそれぞれマススペクトルおよび元素分析値で確認した。

## 【0087】

実施例3：化合物VII-1の合成

下記のルートで化合物VII-1を合成した。

## 【化46】



## 【0088】

## (1) 化合物VII-1bの合成

化合物VII-1a (121 g) を酢酸 3 L に懸濁させ水冷下臭素 94 gを2時間かけて滴下した。そのままさらに1時間攪拌した後結晶を濾過して化合物VII-1bを得た。収量132.3 g、収率62%。

H-NMR(D<sub>2</sub>O)、δ : 7.83(d,2H), 7.70(d,2H), 5.42(t,1H), 4.20(d,2H)

## (2) 化合物VII-1cの合成

化合物VII-1b (100 g) を20%水酸化カリウム水溶液に添加し、90°Cで反応させた。反応開始1時間後に反応液は均一となりさらに2時間反応を続けた。次に反応液を氷冷下で1時間攪拌すると目的物VII-1cの結晶が析出した。収量41 g、収

一般式(I)から(V)で表わされる色素は、一般式(VI)で表わされる化合物から既知の方法を用いて合成することができる。反応条件(温度、溶媒、時間、反応試剤など)に関してはエフ・エム・ハーマー(F. M. Harmer)著「ヘテロサイクリック・コンパウンズーシアニンダイズ・アンド・リレイティド・コンパウンズ(Heterocyclic Compounds-Cyanine Dyes and Related Compounds)」、ジョン・ウィリー・アンド・サンズ(John Wiley & Sons)社-ニューヨーク、ロンドン、1964年刊、及びデー・エム・スター・マー(D. M. Sturmer)著「ヘテロサイクリック・コンパウンズースペシャル・トピックス・イン・ヘテロサイクリック・ケミストリー(Heterocyclic Compounds-Special topics in heterocyclic chemistry)」、第18章、第14節、第482から515項などに記載されている。

#### 【0084】

本明細書の実施例に代表的化合物の製造方法を具体的に示したので、当業者は下記の実施例の具体的説明を参照しつつ、原料化合物、反応条件、試薬などを適宜選択し、必要に応じて実施例に記載した方法に修飾ないし改変を加えることによって、上記一般式に包含される任意の化合物を製造することが可能である。もっとも、上記一般式で表される本発明の化合物の製造方法は特に限定されず、いかなる方法により製造したものも本発明の範囲に包含されることは言うまでもない。

#### 【0085】

##### 【実施例】

##### 実施例1：化合物VII-43の合成

5-ブロモ-2-ヒドラジノピリジン 10 g、3-メチル-2-ブタノン 20 mlを混合し、80°Cで15分間反応した。過剰の3-メチル-2-ブタノンを留去した後、1,4-ブタンジオール 15 mlを加え230°Cに加熱し5時間反応した。反応液を冷却し、そのままシリカゲルカラムクロマトグラフィーにかけ目的物を含むフラクションから溶媒を留去した後ヘキサン/酢酸エチルから結晶化し、淡褐色結晶としてVII-43を得た。収量2.0 g、収率15.7%。

融点：132-134°C

H-NMR(CDCl<sub>3</sub>)、δ: 8.50(d,1H), 7.70(d,1H), 2.40(s,3H), 1.36(s,6H)

せ、ピリジン 8 mlを加えた後氷冷下でメタンスルホニルクロライド 22 gを滴下して8時間反応させた。酢酸エチル層を分液した後飽和重曹水で洗浄した。酢酸エチルを留去した残査を少量の酢酸エチルから再結晶して化合物VII-2bを得た。収量16.6 g、収率85%。

H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>)、δ；10.02(s,1H), 7.41(d,2H), 7.18(d,2H), 4.10(s,1H), 3.08(s,3H)

### 【0092】

#### (2) 化合物VII-2の合成

化合物VII-43 (2.6 g) と化合物VII-2b (3.0 g) を窒素気流下でDMF 40 mlに溶解させ、炭酸カリウム (4.1 g) とテトラキストリフェニルホスフィンパラジウム (0.38 g) を加えて90℃で2.5時間反応させた。反応液をクロロホルム 200 mlで抽出した後濃縮し、残査を酢酸エチル/ヘキサンから結晶化させVII-2の粗結晶を得た。粗結晶を更に酢酸エチルから再結晶してVII-2を得た。収量3.5 g、収率91%。

H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>)、δ；9.92(s,1H), 8.50(d,1H), 8.05(d,1H), 7.52(d,2H), 7.25(d,2H), 3.10(s,3H), 2.35(s,3H), 1.35(s,6H)

### 【0093】

#### (3) 化合物VII-3の合成

化合物VII-2 (0.51 g) をDMF 7 mlに溶解させ、6-ブロモヘキサン酸エチル (0.32 g) と炭酸カリウム (0.60 g) を加えて55℃で5時間反応させた。反応液を酢酸エチルで抽出し、濃縮後シリカゲルカラムクロマトグラフィーにかけ化合物VI-3を得た。収量0.46 g、収率64%。

H-NMR(CDCl<sub>3</sub>)、δ；8.52(d,1H), 8.05(d,1H), 7.58(d,2H), 7.42(d,2H), 4.02(dd,2H), 3.65(m,2H), 3.00(s,3H), 2.35(s,3H), 2.20(t,2H), 1.50-1.30(m,12H), 1.18(t,3H)

### 【0094】

#### 実施例5：化合物VII-4およびVII-5の合成

化合物VII-2及び化合物VII-3の合成条件で、出発原料をm-アミノフェニルアセチレンを用いることにより化合物VII-4及び化合物VII-5を得ることができた。

化合物VII-4 : H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>)、δ ; 9.92(s,1H), 8.50(d,1H), 8.05(d,1H), 7.42-7.20(m,4H), 3.00(s,3H), 2.30(s,3H), 1.25(s,6H)

化合物VII-5 : H-NMR(CDCI<sub>3</sub>)、δ ; 8.52(d,1H), 8.05(d,1H), 7.38-7.10(m,4H), 4.00(dd,2H), 3.60(m,2H), 2.98(s,3H), 2.30(s,3H), 2.20(t,2H), 1.50-1.30(m,12H), 1.18(t,3H)

### 【0095】

#### 実施例6：化合物VII-6の合成

化合物VII-43 (2.4 g)、炭酸カリウム (3.5 g)、トリフェニルホスフィン (0.31 g)、ヨウ化第一銅 (0.12 g)をジエチレングリコールジメチルエーテル 20 mlと水 20 mlに窒素気流下で添加し、25℃にて30分間攪拌した。次にプロパルギルアルコール (1.5 ml) を添加し反応温度を80℃に上げてそのまま16時間反応させた。反応液をセライトで濾過した濾液に塩酸を加えて酸性にして酢酸エチルで洗浄した。酸性水層に水酸化ナトリウム水溶液を加えてpHを8としたのち水層をクロロホルムで分液すると目的物はクロロホルム層に抽出される。クロロホルムを留去して酢酸エチルから再結晶すると化合物VII-6が得られた。収量1.7 g、収率80%。

H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>)、δ ; 8.52(d,1H), 7.62(d,1H), 4.52(m,2H), 2.33(s,3H), 1.30(s,6H)

### 【0096】

#### 実施例7：化合物VII-7の合成

化合物VII-6の合成で用いたプロパルギルアルコールを2-メチル-3-ブチン-2-オールに変え、VII-6と同じ条件で反応させて化合物VII-7を合成した。構造はマススペクトルで確認した。

### 【0097】

#### 実施例8：化合物VII-8の合成

化合物VII-43 (1.2 g) とベンゾ[b]フラン-2-ボロニックアシド (1.2 g) を窒素気流下でDMF 15 mlに溶解させ、炭酸セシウム (3.2 g) とテトラキストリフェニルホスフィンパラジウム (0.29 g) を加えて100℃で3時間反応させた。反応液を酢酸エチルで抽出した後濃縮し、残渣を酢酸エチルから再結晶させVII-8の

を得た。収量1.0 g、収率73%。

H-NMR(CDCl<sub>3</sub>)、δ: 8.95(d,1H), 8.02(d,1H), 7.62(d,1H), 7.54(d,1H), 7.36-7.22(m,2H), 7.10(s,1H), 2.40(s,3H), 1.38(s,6H)

【0098】

実施例9：化合物VII-9およびVII-10の合成

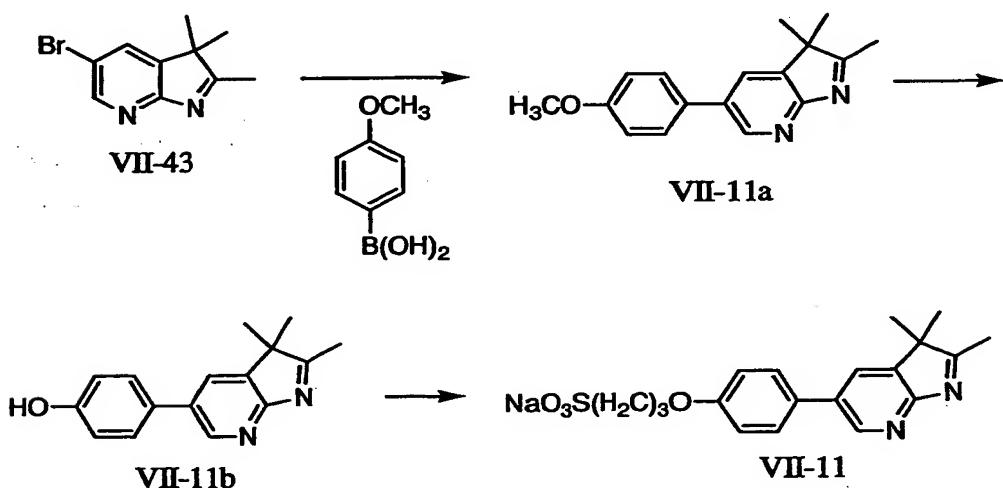
化合物VII-8の合成で用いたベンゾ[b]フラン-2-ボロニックアシッドを2-フランボロニックアシッドまたは2-チオフェンボロニックアシッドに変えてVII-8と同様の条件で反応を行うと化合物VII-9および化合物VII-10が得られた。それぞれの構造はマススペクトルで確認した。

【0099】

実施例10：化合物VII-11の合成

下記に示したルートで化合物VII-11を合成した。

【化4.8】



【0100】

(1) 化合物VII-11aの合成

化合物VII-8の合成で用いたベンゾ[b]フラン-2-ボロニックアシッドを4-メトキシフェニルボロニックアシッドに変えてVII-8と同様の条件で反応を行い化合物VII-11aを得た。

H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>)、δ: 8.59(d,1H), 8.08(d,1H), 7.62(d,2H), 7.02(d,2H), 3.80(s,3H), 2.30(s,3H), 1.38(s,6H)

## (2) 化合物VII-11bの合成

化合物VII-11a (1.0 g) を47%臭化水素水 15 mlに溶かし、130°Cで2時間反応させた。反応液を氷冷しながら10%水酸化ナトリウム水で中和し、クロロホルムで抽出した。クロロホルムを留去してイソプロピルアルコール/ヘキサンで再結晶して化合物VII-11bを得た。収量0.85 g、収率90%。

構造はマススペクトルで確認した。

## 【0101】

## (3) 化合物VII-11の合成

化合物VII-11b (0.22 g) をDMF 10 mlに溶解し、氷冷下で水素化ナトリウム (35 mg) とプロパンサルトン (0.1 g) を加えて氷冷下10分、室温で20分反応させた。反応液にイソプロピルアルコールと少量の酢酸エチルを加えて結晶化させ、化合物VII-11を得た。収量0.30 g、収率87%。

構造はマススペクトルで確認した。

## 【0102】

## 実施例11：化合物VII-12の合成

化合物VII-8の合成で用いたベンゾ[b]フラン-2-ボロニックアシドをp-トリルボロニックアシドに変えてVII-8と同様の条件で反応を行い化合物VII-12を得た。

H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>)、δ : 8.59(d,1H), 8.12(d,1H), 7.62(d,2H), 7.30(d,2H), 3.80(s,3H), 2.38(s,3H), 2.30(s,3H), 1.35(s,6H)

## 【0103】

## 実施例12：化合物VII-42の合成

5-クロロ-2-ヒドロジノピリジン 35 g、3-メチル-2-ブタノン 100 mlを混合し、100°Cで30分間反応した。過剰の3-メチル-2-ブタノンを留去した後、1,4-ブタンジオール 100 mlを加え240°Cに加熱し5時間反応した。反応液を冷却し、そのままシリカゲルカラムクロマトグラフィーにかけ目的物を含むフラクションから溶媒を留去した後ヘキサン/酢酸エチルから結晶化し、淡褐色結晶としてVII-42を得た。収量14.0 g、収率29.5%。

融点：118-120°C

H-NMR(CDCl<sub>3</sub>)、δ；8.50(d,1H), 7.70(d,1H), 2.40(s,3H), 1.36(s,6H)

【0104】

実施例13：化合物VII-46の合成

2,6-ジフルオロピリジン 25 g、イソプロピルアルコール 100 ml、包水ヒドラジン 40 mlを混合し、3時間加熱還流した。イソプロピルアルコールを減圧下で留去し、水を加えて析出した結晶を濾取した。水洗、乾燥を行い、6-フルオロ-2-ヒドラジノピリジン 21.2 gを得た。収率76.8%。乾燥中に着色が見られたため、乾燥後速やかに次の反応に用いた。

【0105】

6-フルオロ-2-ヒドラジノピリジン 10 g、3-メチル-2-ブタノン 20 mlを混合し、80℃で15分間反応した。過剰の3-メチル-2-ブタノンを留去した後、エチレングリコール 20 mlを加え220℃に加熱し5時間反応した。反応液を冷却し、水と酢酸エチルを加え、目的物を有機層に抽出した。酢酸エチルを留去しシリカゲルカラムクロマトグラフィーにかけ目的物を含むフラクションから溶媒を留去した後ヘキサン／酢酸エチルから結晶化してVII-46を得た。収量3.2 g、収率22.8%。  
融点：88-90℃

【0106】

実施例14：化合物VII-64の合成

化合物VII-42(4.5 g)、DMF 40 ml、3-ヒドロキシ-1-プロパンチオール4.0 g、t-ブトキシカリウム 3.9 gを混合し、窒素気流下で5時間加熱還流した。反応終了後、DMFを減圧留去し、得られた褐色油状物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製した。目的物は淡黄色油状物として得られた。収量1.0 g、収率17.9%

H-NMR(CDCl<sub>3</sub>)、δ；8.38(d,1H), 7.58(d,1H), 4.83(b,1H), 3.77(t,2H), 3.05(t,2H), 3.36(s,3H), 1.90(m,2H), 1.36(s,6H)

【0107】

実施例15：化合物VII-72の合成

(1)6-メルカプトヘキサン酸エチルエステルの合成

6-ブロモヘキサン酸エチルエステル 250 g、チオ尿素 102.3 g、イソプロピルア

ルコール 500 mlを混合し、10時間加熱還流した。冷却後、イソプロピルアルコールを減圧留去し、ヘキサン 500 mlを加え攪拌した。デカンテーションでヘキサン層を除き、炭酸カリウム 400 g、酢酸エチル 1 L、エタノール1 L、水 2 Lを加え、窒素気流下、75°Cで6時間反応した。反応終了後、酢酸エチル 1 Lを加え分液した後有機層を濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製した。目的物は無色の油状物として得られた。収量 159 g、収率 80.5%。

## 【0108】

## (2) 化合物VII-72の合成

化合物VII-42(5 g)をDMF 40 mlに溶解し、6-メルカプトヘキサン酸エチルエステル 8 gを添加した。この溶液に酢酸カリウム 5.5 gを加え、窒素気流下で8時間加熱還流した。シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、無色油状物として化合物VII-72を得た。収量2.6 g、収率30.0%。

H-NMR(CDC<sub>3</sub>)、δ : 8.57(d,1H), 8.40(d,1H), 4.12(q,2H), 2.90(m,4H), 2.31(s,3H), 2.28(m,2H), 1.63(m,4H), 1.33(s,6H), 1.25(t,3H)

## 【0109】

一般式(VI)の化合物は一般式(VII)の化合物をアルキル化剤と反応させることにより合成できるが、このとき目的とするピリジン窒素へのアルキル化と共にインドレニン窒素へのアルキル化も同時に起こる場合がある。多くの化合物ではイソプロピルアルコールや酢酸エチルによる熱洗浄により目的物の純度を高めることができるが、洗浄効果が小さい化合物では混合物のまま次の反応を行ってもさしつかえない。色素を形成すると目的物の結晶性が高まることが多く、ほとんどの場合インドレニン窒素アルキル化体由来の不純物は再結晶によって除去できる。以下の実施例では、一般式(VI)の化合物を高純度で得ることが難しいため、目的物の構造確認はマススペクトルのみで行った。

## 【0110】

## 実施例16：化合物VI-1の合成

化合物VII-1(1 g)をアセトン 2 mlに溶解しヨウ化メチル 2 mlを加えて6時間加熱還流した。反応液から析出する結晶をイソプロピルアルコールで洗浄するとアモルファス状の化合物VI-1が得られた。

収量0.64 g、収率70%。

mass (posi) : m/e=355

【0111】

実施例17：化合物VI-2の合成

化合物VII-1 (1 g) をアセトン 2 mlに溶解し、2-メチルプロパンサルトン 2 mlを加えて5時間加熱還流した。反応液から析出する結晶をアセトンで洗浄すると化合物VI-2が得られた。

収量0.71g、収率65%。

mass (posi) : m/e=476

【0112】

実施例18：化合物VI-7の合成

化合物VII-1 (1 g) をアセトン 2 mlに溶解し、6-ブロモヘキサン酸エチル 2 mlを加えて8時間加熱還流を行った。反応液に酢酸エチルを添加するとオイル状の沈殿が生じる。上澄みの酢酸エチルをデカンテーションにより除去し、さらに数回酢酸エチルで洗浄したのち残渣を減圧乾燥するとアモルファス状の化合物VI-7が得られた。

収量0.70 g、収率76%。

mass (nega) : m/e=483

【0113】

実施例16から18の合成法に準じて一般式(VI)で表わされるその他の化合物を合成することができた。

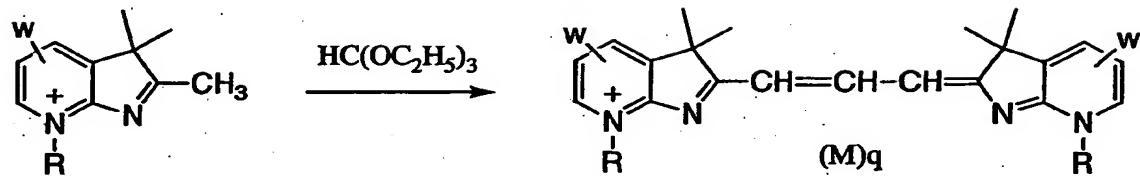
【0114】

式(I)又は式(II)で表される化合物は一般的に下記のスキームに示した方法で合成することができる。

スキーム(A)

【化49】

対称型シアニンの合成法

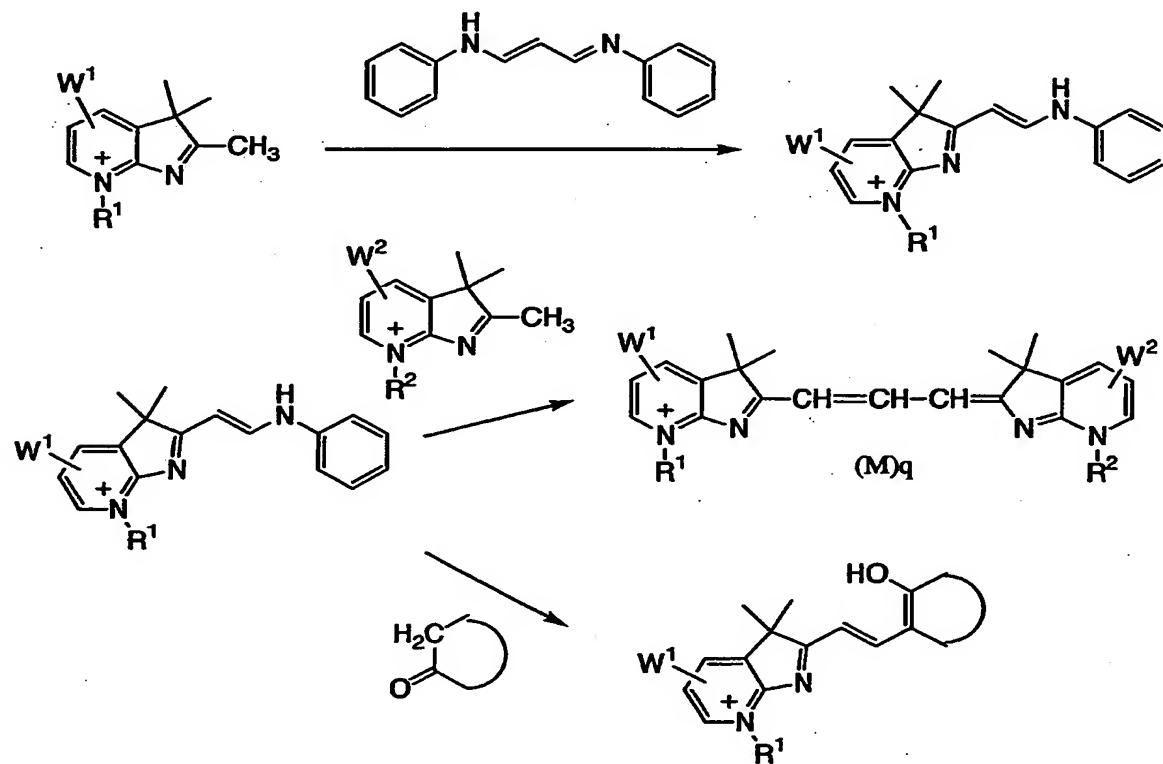


【0115】

スキーム(B)

【化50】

非対称型シアニン、メロシアニンの合成法



【0116】

実施例19：化合物I-1の合成

化合物I-1はスキーム(B)のルートで合成した。化合物VI-1(0.35 g)とN,N'-ジフェニルホルムアミジン(0.6 g)及び無水酢酸(5 ml)を混合して90°Cで1時間反応させた。反応液に酢酸エチル(50 ml)を添加し、析出する色素中間体を単離し

た。この色素中間体と化合物VI-7 (0.48 g) をDMF 5 mlに溶解し、トリエチルアミン0.5 mlと無水酢酸0.2 mlを添加して室温で2時間反応させた。反応液に酢酸エチルを加えるとオイル状残渣が生成した。上澄みの酢酸エチルを除去したのち、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーで精製して化合物I-1のエチルエステル体を単離した。

## 【0117】

このエステル体を5%水酸化リチウム水中に溶解し、室温で30分反応させると目的のI-1が生成した。反応液に水、クロロホルム、塩酸、トリプチルアミンを加えて分液し、目的物を含むクロロホルム層を2回水洗したのち濃縮し、残渣に酢酸エチルを加えると化合物I-1のトリプチルアミン塩が得られた。トリプチルアミン塩をメタノールに溶解し、酢酸カリウムを添加すると化合物I-1のカリウム塩が得られ、それをメタノールから再結晶してHPLC純度99%以上の化合物I-1を得た。

収量120 mg、収率11%。

mass (nega) : m/e=861

吸収極大(メタノール) : 650 nm

分子吸光係数 : 238000

融点 : >300°C

## 【0118】

## 実施例20：化合物I-2の合成

化合物I-1の合成で用いた化合物I-1を化合物I-2に変更した以外は例19と同様の条件で反応を行い、化合物I-2を得た。

mass (nega) : m/e=1015

吸収極大(メタノール) : 651 nm

分子吸光係数 : 238000

## 【0119】

## 実施例21：化合物I-3の合成

化合物I-2と同様の条件で化合物I-3のカルボン酸誘導体を合成した。該カルボン酸誘導体をDMFとピリジンの混合溶媒に溶解させ、N,N'-ジスクシンイミジルカ

ボネートを加えて40°Cにて2時間反応させた。反応液にイソプロピルアルコールを加えて生じる結晶を濾過し、該結晶をゲル濾過（セファデックスG-10）により生成して化合物I-3を得た。

mass (nega) : m/e=1031

吸収極大（メタノール）: 651 nm

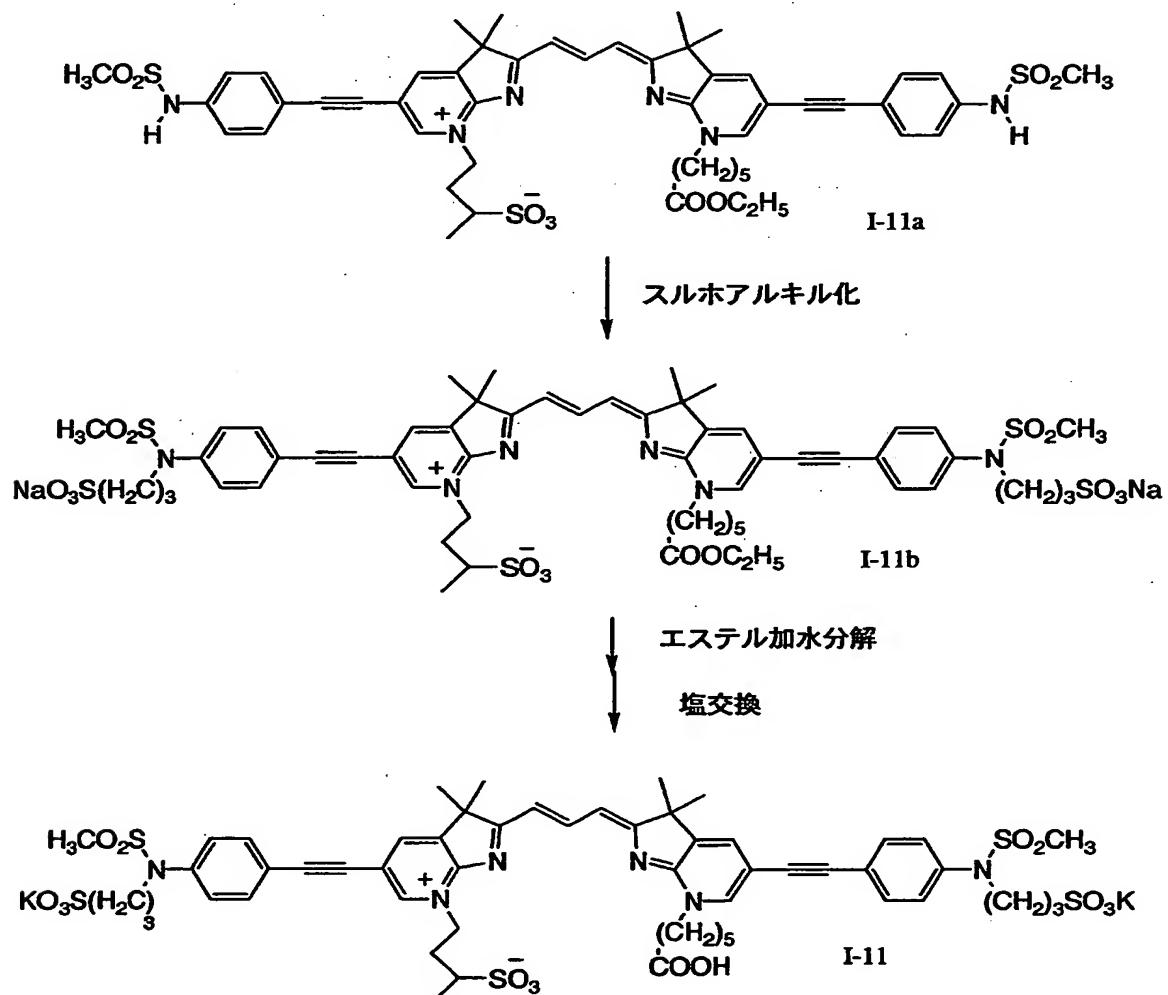
分子吸光係数: 218000

【0120】

実施例22：化合物I-11の合成

化合物I-11は以下に示すルートで合成した。

【化51】



【0121】

化合物VI-9と化合物VI-12を用いて上記方法に準じて化合物I-11aを得た。化合物

I-11a (45 mg) をDMF(4 ml)に溶解させ、炭酸カリウム (0.2 g) とプロパンサルトン(0.5 ml)を加えて50℃にて3時間反応させてスルホアルキル化を行った。反応液にイソプロピルアルコールを加えて生じる結晶を濾過し、該結晶を水に溶かした後、クロロホルムとトリプチルアミンおよび塩酸を加えて分液した。クロロホルム層を減圧濃縮して得られたオイル状残渣に5%水酸化リチウム水溶液を加え、室温で1時間攪拌してエステルの加水分解を行った後、クロロホルムとトリプチルアミンおよび塩酸により分液した。クロロホルム層を減圧濃縮して得られたオイル状残渣に酢酸カリウムのメタノール溶液を添加すると化合物I-11が結晶として得られた。

収量40mg、収率69%。

mass (nega) : m/e=1248

吸収極大(メタノール) : 650 nm

分子吸光係数 : 235000

融点 : >300℃

### 【0122】

#### 実施例23：化合物I-12の合成

化合物VII-4を出発原料として化合物I-11と同じルートおよび条件で化合物I-12を合成した。

mass (nega) : m/e=1234

吸収極大(メタノール) : 649 nm

分子吸光係数 : 233000

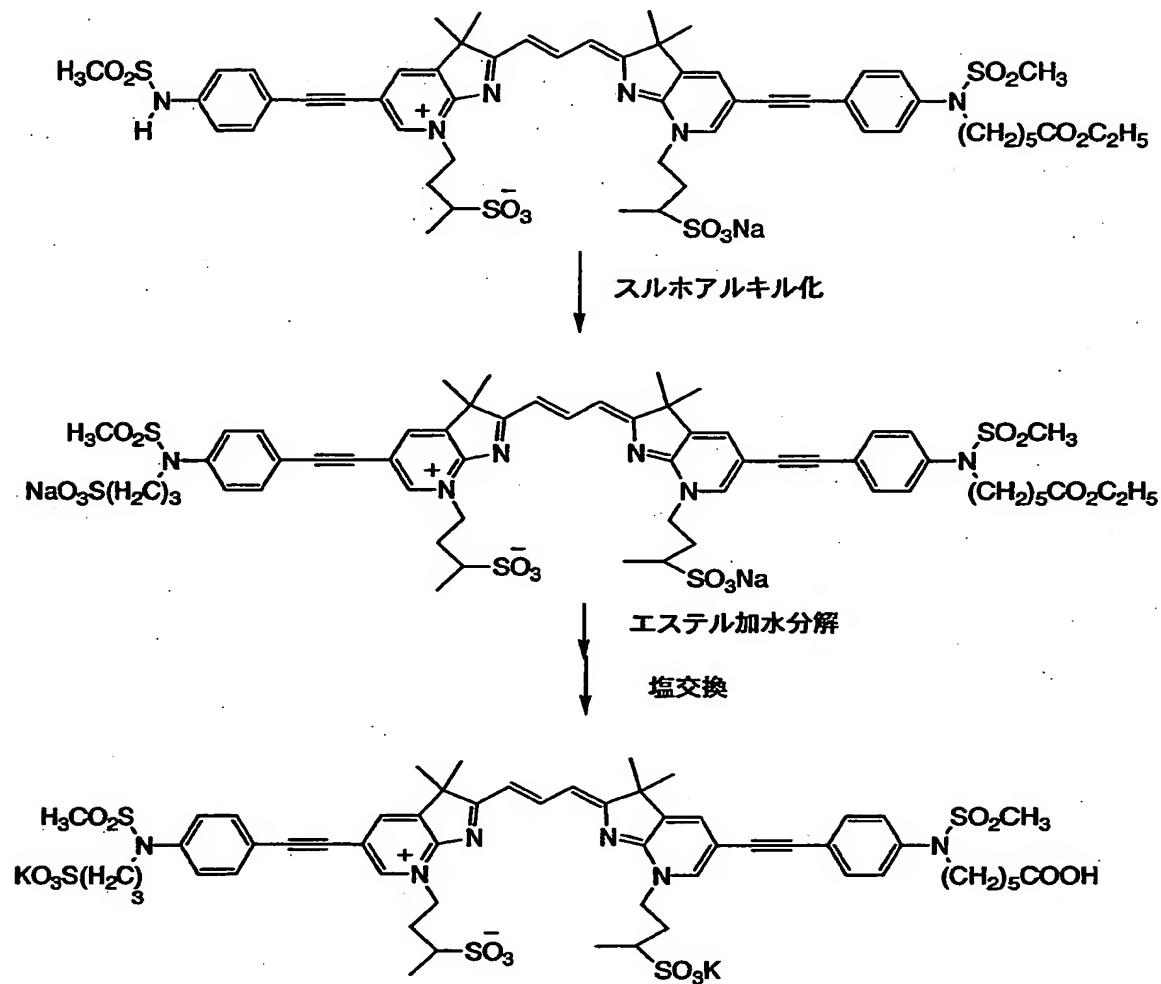
融点 : >300℃

### 【0123】

#### 実施例24：化合物I-13の合成

化合物VII-4および化合物VII-5を出発原料として下記のルートで化合物I-13を合成した。

## 【化52】



## 【0124】

化合物I-13の合成条件は化合物I-11に準じた。

mass (nega) : m/e=1262

吸収極大（メタノール）: 649 nm

分子吸光係数: 233000

融点: >300°C

## 【0125】

その他の色素も実施例19から24の方法に準じて合成することができた。

## 【0126】

実施例25: 相対蛍光量子収率の比較

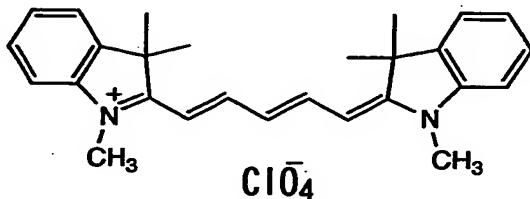
本発明の化合物の相対蛍光量子収率を表1に示した。相対量子収率の測定と算出

はJournal of Chemical Society, Faraday Trans., 92, 4917-4925 (1996) の方法に従って行った。比較色素として用いた従来のシアニン色素の構造を下記に示す。表1から明らかなように、本発明の色素は安価なヘリウム-ネオンレーザー光源を用いた励起 (633 nm) に適しており、かつ蛍光強度が従来の色素より2~3倍も強いことがわかる。

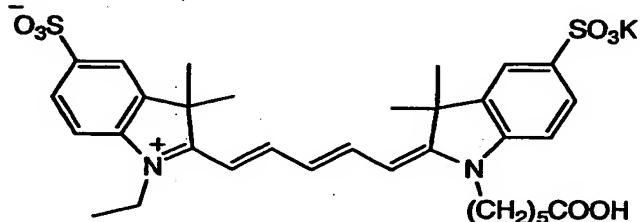
【0127】

【化53】

比較色素1



比較色素2



【0128】

【表1】

化合物番号	吸収極大(nm)	蛍光極大(nm)	相対蛍光量子収率
比較化合物1	641	660	0.21
比較化合物2	645	664	0.27
I-1	649	669	0.68
I-2	649	669	0.68
I-3	649	669	0.67
I-11	651	672	0.63
I-12	650	671	0.62
I-13	651	672	0.63
I-14	649	671	0.63
I-15	650	671	0.62
I-16	635	652	0.65
I-17	634	651	0.64
I-18	635	652	0.63
I-21	643	665	0.61
I-22	656	676	0.61
I-23	646	662	0.63
I-24	633	651	0.64
I-25	630	547	0.63
I-26	650	667	0.59
I-27	635	650	0.69
I-28	634	650	0.7
I-31	632	648	0.72
I-36	625	640	0.6
I-44	623	635	0.58
I-50	640	660	0.58
I-54	638	662	0.64

## 測定法

- (1) 色素のエタノール溶液を620nmの吸光度が0.1となる濃度に調整
- (2) 励起波長620nmで蛍光スペクトル測定
- (3) 蛍光スペクトルの面積値を算出
- (4) 絶対蛍光量子収率既知( $\Phi f=0.54$ )のCresyl Violetの面積値との相対値算出

## 【0129】

## 実施例26：凝集性の評価

本発明の化合物を50 mM TrisHCl緩衝液(pH8.0)、4×SSC (67 mM NaCl/67 mM クエン酸ナトリウム)、1 M チャーチリン酸緩衝液(0.5 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$ 、pH7.2)および1 M 塩化ナトリウム水溶液に溶解して吸収スペクトルの形状を評価したところ、具体例に記載の色素はいずれも有機溶媒中のモノメリックなスペクトルが主吸収であり、特に化合物I-1からI-21までの化合物は通常のシアニン色素で観測される凝集が全く起こっていないことが確認できた。

## 【0130】

## 【発明の効果】

本発明の一般式(I)、(II)、(IV)、及び(V)で表される化合物は、蛍光強度が従来の色素より2~3倍も強く、高塩濃度水性媒体中でも凝集しないという性質を有しており、蛍光標識用色素として満足すべき条件を備えている。従って、上記化合物は、DNAの配列決定や蛍光免疫測定法による生理活性物質等の測定のための高感度な蛍光標識試薬として用いることができ、あるいは血管に投与して生体内情報を可視化する蛍光造影剤等に用いることが可能である。また、一般式(III)、一般式(IV)、及び一般式(VII)で表される化合物は、上記化合物の製造用中間体として有用である。

【書類名】 要約書

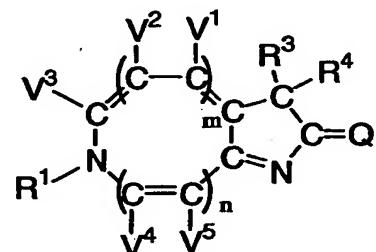
【要約】

【課題】 DNAの配列決定や蛍光免疫測定法による生理活性物質等の測定などに使用可能な蛍光性化合物を提供する。

【解決手段】 式(I) ( $V^1 \sim V^5$ は水素原子、又はハロゲン原子、アルキル基、アルケニル基、及び被標識物質と共有結合形成可能な基などからなる群から選ばれる基を示し、 $V^1$ と $V^2$ などは互いに結合して飽和又は不飽和の環を形成してもよく； $R^1$ は水素原子、又はアルキル基、アリール基、及びヘテロ環基からなる群から選ばれる基を示し； $R^3$ 及び $R^4$ はアルキル基を示し、 $R^3$ と $R^4$ は連結して環を形成してもよく； $Q$ はメチン色素発色団を形成するのに必要な原子群を示し； $m$ 及び $n$ は0又は1を示し、ただし $m+n=1$ である) で表される化合物又はその塩。

【化1】

一般式(I)



出願人履歴情報

識別番号 [000005201]

1. 変更年月日 1990年 8月14日

[変更理由] 新規登録

住 所 神奈川県南足柄市中沼210番地

氏 名 富士写真フィルム株式会社